

**Die Wirkung des Cytochrom c auf die
Dynamik des isolierten, spontan
schlagenden Froschherzens**

Nikolaus Schäfer

=
1965

Aus dem Institut für animalische Physiologie
der Universität Frankfurt am Main
Direktor: Prof. Dr. med. K. W E Z L E R

DIE WIRKUNG DES CYTOCHROM C AUF DIE DYNAMIK
DES ISOLIERTEN, SPONTAN SCHLAGENDEN
FROSCHHERZENS

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

vorgelegt von
Nikolaus S C H Ä F E R
aus Dehrn / Lahn

Frankfurt am Main 1965



Dekan: Prof. Dr. H. Frick
Referent: Prof. Dr. K. Wezler
Korreferent: Prof. Dr. R. K. Zahn
Mündliche Prüfung: 14. Juni 1965

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung

II. Methodik

III. Versuchsergebnisse

- A. Das isolierte, ungeschädigte Herz unter der Wirkung des Cytochrom c
- B. Das isolierte, durch längere Druckbelastung geschwächte Herz unter der Wirkung des Cytochrom c
- C. Das isolierte, vergiftete Herz unter der Wirkung des Cytochrom c
 - 1. KCN-Vergiftung
 - 2. DNP-Vergiftung
 - 3. Malachitgrünvergiftung
- D. Kontrollversuche
 - 1. Cytochrom c ist durch Protamin ersetzt
 - 2. Cytochrom ist durch Myoglobin ersetzt
 - 3. Tyrode ist durch Froschserum ersetzt

IV. Folgerungen

- A. Das Schlagvolumen unter der Wirkung des Cytochrom c
- B. Die enddiastolische Füllung unter der Wirkung des Cytochrom c
- C. Die wirksame Cytochrom c-Konzentration

V. Zusammenfassung

Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. Einleitung

Das am leichtesten zugängliche Glied der intrazellulären Atmungskette ist das Cytochrom c. Für den Sauerstofftransport in der Zelle ist es maßgeblich verantwortlich und ist in größerer Menge als die übrigen Atmungsfermente vorhanden. Da es aus dem Gewebe extrahiert und in reinem Zustand dargestellt werden konnte, lag eine therapeutische Anwendung nahe. Bisher wurde in der Behandlung folgender Krankheiten über Erfolge berichtet:

Herzdekompensationen (1)
mangelhafte Herzmuskel- und Gehirnfunktion (2,3,4,5)
diphtherische Myocarditis (6,7)
Angina pectoris (8,9)
Cheyne-Stokes'sche Atmung (10)
Mitralstenosen, kombinierte Vitien, Pneumektomien, Pericarditiden (11)
Cor pulmonale (12)
Gewebschäden infolge arterieller Durchblutungsstörungen (13)
Schockzustände (12)
diphtherische Herzscheiden (14,15)
Barbituratvergiftung (16,17)
Insuffizienz der Zellatmungsfermente (18)
Evipannarkose (12,19,20)
Abfall der Serummilchsäure bei hypoxämischen Zuständen (12,21)
Atemnotzustände (22)

Der Nachweis einer Besserung der genannten Krankheitsbilder durch Cytochrom c-Gaben

wurde elektrokardiographisch oder durch klinische Beobachtungen erstrebt. Auf diese Weise war es aber nicht möglich, exakte Aussagen über Art und Stärke der Wirkung zu machen.

Das Kaltblüterherz bot die Möglichkeit, die Wirkung des Cytochrom c an Hand einer größeren Reihe von Versuchen quantitativ darzustellen. Die Dynamik des Kaltblüterherzens unterscheidet sich von der des Warmblüterherzens in wesentlichen Punkten gar nicht oder nur graduell. Es ist weniger empfindlich gegen Temperaturänderungen und manche im Experiment unvermeidlichen Eingriffe und schlägt in der Versuchsanordnung über Stunden. Enddiastolische Füllung, Schlagvolumen und Restvolumen können genau gemessen werden.

Einem Sauerstoffmangel gegenüber ist die Herzmuskelzelle sehr empfindlich. Ihr Cytochrom c-Gehalt ist höher als der anderer Organzellen (23). Diese beiden Tatsachen ließen vermuten, daß für den Myocardstoffwechsel in hypoxämischen Zuständen ein großer Cytochrom c-Bedarf herrscht. Wenn wir nun den Myocardstoffwechsel durch exogen zugeführtes Cytochrom c unterstützen wollen, treten uns folgende Fragen entgegen:

1. Ist die intrazelluläre Cytochrom c-Konzentration bei anoxischen Zuständen limitierend für die Zellatmung?
2. Gelangt exogen verabreichtes Cytochrom c überhaupt in die Mitochondrien?
3. Vermag ein Überschuß die verminderte Zellatmung zu stimulieren? (24)

Um diese Fragen zu klären wurden in der Mehrzahl der Versuche die Kaltblüterherzen durch

verschiedene Noxen in hyp- oder anoxische und dadurch bedingte hypodynamische Zustände künstlich versetzt. Nur während unserer ersten Versuche blieben die Herzen völlig ungeschädigt.

Das verwendete Cytochrom c wurde einer sterilen Injektionslösung entnommen, die bis 1962 unter der Bezeichnung "Cyto - Mack" im Handel war.

II. Methodik

In der von G. Neuroth und K. Wezler (25) beschriebenen Versuchsanordnung wurden 170 isolierte, spontan schlagende Herzen von *R. esculenta* und *R. temporaria* mit Feuchtgewichten zwischen 25 und 175 mg untersucht. Nachdem an dem freigelegten Herz alle zu- und abführenden Gefäße außer dem rechten Ast der Aorta abgebunden waren, wurde durch diesen eine Glas-kanüle in den Ventrikel eingeführt und eingebunden. Durch diese Aortenkanüle konnte eine Druckhöhe von 0 bis 50 cm H_2O eingestellt werden. Das so vorbereitete Herz wurde in einen allseitig verschließbaren Glaszylinder eingebracht, der mit Tyrode gefüllt und mit einer volumregistrierenden Kapsel verbunden war. In Anlehnung an die von O. Frank (26) vorgeschlagene Abbindung der Vorhof-Kammer-Grenze wurde der Vorhof so eingeengt, daß er sich in nur ganz geringem Maße füllen konnte. Einem Undichtwerden der A-V-Klappen bei hohen Belastungsdrucken wurde damit vorgebeugt. Ein solcher Verband modifiziert zwar die Stärke der funktionellen Beeinflussung der Kammer durch die Vorhofscentren, aber er schränkt weder die Erregungsbildung noch die Erregungsleitung ein (27).

Die Volumänderungen des sich spontan kontrahierenden Herzens wurden photokymographisch registriert. Ein Beispiel der so entstandenen Kurvenbilder zeigt die Abb. 1. Es sind je einige isotonische Kontraktionen

für die Druckstufe von 20 cm H₂O bei aufsteigendem Druck aus einem Versuch ausgewählt. Diese Eichkurven ermöglichen folgende Messungen:

1. die enddiastolische Füllung (Anfangsvolumen) V_A ,
2. die endsystolische Füllung (Restvolumen) V_R ,
3. das Schlagvolumen V_S als Differenz der beiden genannten Größen,
4. die Frequenz der Kontraktionen.

Durch die in den Ventrikel vorgeschobene Kanüle konnte sich die Aortenklappe während der Diastole nicht schließen. Der arterielle Belastungsdruck, gegen den das Herz sein Schlagvolumen auswarf (0 bis 50 cm H₂O), war deswegen gleichzeitig der diastolische Füllungsdruck. Seine unphysiologische Höhe bewirkte maximale enddiastolische Füllungen, die sich aber als sinnvoll erweisen, wenn der Einfluß herzwirksamer Substanzen meßbar dargestellt werden soll (28).

Die Versuche mit Cytochrom c als herzwirksamer Substanz zeigen, daß bei diastolischem Füllungsdruck unter 10 cm H₂O eine Wirkung kaum registrierbar ist. Das Schlagvolumen V_S zeigt dabei an ungeschädigtem, geschädigtem oder unter Einfluß des Cytochrom c stehendem Herzen kaum Differenzen; erst bei wachsendem Druck werden sie deutlich. Als eines von vielen Beispielen für diese Tatsache sei der Versuch Nr. 31 angeführt (Abb. 2). Bis zu einem Füllungsdruck von 10 cm H₂O sind die gemessenen Werte aller Dehnungszyklen gleich; erst bei höheren Drucken werden die Differenzen signifikant.

Ein Versuch bestand aus 3 bis 10 Dehnungszyklen, von denen jeder 13 Druckstufen mit je 5 Kontraktionen umfaßte. Für den gesamten Versuch ergab sich eine Dauer von 2 bis 3 Stunden.

Die Versuche wurden bei Temperaturen von etwa 20° C. durchgeführt. Für *R. temporaria* ist dies die obere Grenztemperatur, bei der Arrhythmien und Veränderungen des EKG auftreten; für *R. esculenta* beträgt sie 24° C. (29). Vom Versuch Nr. 115 ab wurden die Herzen durch einen Kühlmantel auf die für den Frosch optimale Temperatur von 12° bis 14° C. erniedrigt (30).

In den Versuchen von Nr. 1 bis 90 wurden die herzwirksamen Substanzen sowohl der Innen- als auch der Außenflüssigkeit des Herzens beigegeben. Nach jeder Drucksteigerung mußte das Herz aus dem Zylinder herausgenommen werden. Außerdem wurde das Cytochrom c stets frischer Tyrode beigelegt. Um dadurch entstehende Fehlerquellen auszuschließen, blieb in den folgenden Versuchen während der ganzen Versuchsdauer die das Herz umgebende Flüssigkeit unberührt. Die Substanzen wurden nur noch der Innenflüssigkeit zugelegt. Zur Drucksteigerung mit Cytochrom c wurde stets dieselbe Tyrode verwendet, die schon zur Druckbelastung des Herzens ohne Cytochrom c gebraucht worden war. Das machte einen Effekt durch Ionenerneuerung oder -veränderung unmöglich.

III. Versuchsergebnisse

A. Das isolierte, ungeschädigte Herz unter der Wirkung von Cytochrom c

Um die Wirkung des Cytochrom c auf das durch mechanische Belastung oder durch Gifte geschädigte Herz beurteilen zu können, mußte zunächst seine Wirkung auf das ungeschädigte Herz geprüft werden. In 14 Versuchen wurden an je einem Froschherz 3 Dehnungszyklen vorgenommen: Der erste mit Tyrode, der zweite mit Tyrode und Cytochrom c-Zusatz in Konzentrationen von $1:10^6$ bis $1:10^3$, der dritte wieder mit Tyrode. Die Lösungen wurden vor der Verwendung einige Minuten von O_2 durchperlt.

Die Abb. 3 zeigt die Schlagvolumenveränderungen bei verschiedenen Druckstufen von 5 Versuchen unter der Wirkung von Cytochrom c. Trotz großer Konzentrationsunterschiede ist der Verlauf aller Kurven ähnlich außer der des Vers. 10, bei dem die Cytochrom c-Konzentration am niedrigsten war. Diese Beispiele lassen schon vermuten, daß die Wirkung dieses Präparates auf das Schlagvolumen des Herzens unabhängig ist von der Höhe der Konzentration. Es scheint lediglich eine untere Grenze zu geben, unterhalb derer der Cytochrom c-Gehalt der Tyrode so gering ist, daß er auf die Dynamik des Herzens keinen Einfluß mehr haben kann. Weiterhin zeigen diese Kurven, daß Cytochrom c auch in hohen Konzentrationen nicht im negativen Sinn auf das Schlagvolumen wirkt. Alle Werte unter Null liegen innerhalb

der Fehlergrenze.

Die Schlagvolumensteigerungen unter der Wirkung von Cytochrom c sind in den Versuchen mit ungeschädigten Herzen gering, besonders bei unphysiologisch hohen Belastungsdrucken. Zum Teil sind die entsprechenden V_S -Werte der 3 Dehnungszyklen eines Versuchs sogar annähernd gleich. Diese Tatsache spricht nicht gegen die Herzwirksamkeit von Cytochrom c, denn in solchen Fällen waren die Schlagvolumina von Anfang an so groß, daß sie nicht mehr gesteigert werden konnten. Die endsystolische Füllung V_R betrug bei einem Belastungsdruck von 30 cm H_2O 4 bis 40%, bei 40 cm H_2O 5 bis 40% und bei 50 cm H_2O 25 bis 46% der enddiastolischen Füllung V_A .

Der Wert V_A schließt neben der enddiastolischen Kammerfüllung noch eine geringe Vorhoffüllung ein, die aber während des ganzen Versuchs konstant bleibt. Der Verband um den Vorhof schließt diesen nicht ab, sondern er engt ihn nur ein.

Nur dann, wenn das Herz während des ersten Dehnungszyklus in Tyrode bereits eine spontan eingetretene Hypodynamie zeigt, tritt im zweiten Dehnungszyklus mit Cytochromzusatz eine Vergrößerung von V_S ein. Das Esculentenherz des Vers. 23 war nach der Präparation extrem schwach und zeigt bei der ersten Drucksteigerung entsprechend niedrige V_S -Werte. Unter der Wirkung von Cytochrom treten Schlagvolumenvergrößerungen bis zu 870% auf (Abb. 4). Nur in einem einzigen Versuch (Nr. 66) bleibt die Dynamik des Herzens trotz hoher V_R -Werte - bis zu 70% der enddiastolischen Füllung - unter der Wirkung von Cytochrom völlig

unverändert.

In allen Versuchen mit ungeschädigten Herzen bleiben die entsprechenden V_A -Werte während aller Dehnungszyklen annähernd gleich. Sie überschreiten nicht den Bereich von $\pm 10\%$. Diese geringen Veränderungen sind uncharakteristisch und unabhängig von der Cytochrom c-Konzentration. Ebenso gering und uncharakteristisch sind in diesen Versuchen die Veränderungen der Schlagfrequenz.

B. Das isolierte, durch längere Druckbelastung
geschwächte Herz unter der Wirkung von
Cytochrom c

In 45 Versuchen wurden die Herzen nach einem ersten Dehnungszyklus geschwächt, indem sie bis zu 4 Stunden mit arteriellen Drucken zwischen 20 und 50 cm H₂O belastet wurden. An einen darauf folgenden Dehnungszyklus, zu dem die gleiche Tyrode wie bei der Druckbelastung verwendet wurde, schloß sich die Drucksteigerung mit Tyrode und Cytochrom c-Zusatz in Konzentrationen von $1:10^4$ bis $1:10^5$ an. In 30 Versuchen wurde der Wirkstoff frischer Tyrode zugefügt; in 15 Versuchen wurde, um die Wirksamkeit irgendwelcher Ionen, die vorher gebunden und nun durch die frische Tyrode in höherer Konzentration zugeführt werden konnten, auszuschließen, der schon zur Druckbelastung verwendeten Tyrode Cytochrom c zugefügt. Nachdem das Herz 3 Mal ausgewaschen war, wurde es zur Kontrolle einem letzten Dehnungszyklus unterzogen.

Das Ziel der langen Belastung des Herzens mit unphysiologisch hohen arteriellen Drucken war, seine Kraft zu mindern. An der absinkenden Leistung konnte der Erfolg festgestellt werden. Vielfach war es nur die langsamer werdende Frequenz, die dann unregelmäßig wurde und leicht zum Herzstillstand führte. In solchen Fällen mußte die Druckbelastung abgebrochen werden, bevor ein Zeichen der Hypodynamie außer der Arrhythmie ersichtlich war. Wenn eine Frequenz von 40/Min. während der Belastung auf 10/Min. - also um 75% - abgesunken war, trat gewöhnlich Herzstillstand ein. In solchen Fällen änderte sich die Hubhöhe des Herzmuskels nicht

oder nur gering. Ein Beispiel dieser Art stellt Vers. 25 dar (Abb. 5). Blieb die Herzaktion regelmäßig, so konnte die Druckbelastung während langer Zeit bestehen bleiben, und die Größe des Schlagvolumens sank mehr oder weniger stark ab. Je kleiner die Werte nach der Belastung waren, umso mehr stiegen sie unter dem Einfluß des Wirkstoffes wieder an, bis zu 1800% (Abb. 6).

Das Verhältnis V_S/V_A bei $P_A=30$ cm H₂O unter der Wirkung von T_jrode Ib ist nach K.Weidler (27) ein Zeichen des Hypodynamiegrades des Herzens nach der Druckbelastung. Im Vers. 25 ist sie nur geringgradig ($V_S/V_A=145/164=0,88$), und Cytochrom c hat kaum Veränderungen der V_S -Werte bewirkt. Im Vers. 56 wurde durch die Druckbelastung eine hochgradige Hypodynamie erreicht ($V_S/V_A=17/229=0,07$); die V_S -Werte stiegen unter der Wirkung des Cytochrom c stark an.

Auf der Druckstufe von 30 cm H₂O bei steigendem Druck vergrößerten sich die V_S -Werte in 67% der Versuche und zwar um einen Mittelwert von 123%; in 31% der Versuche verkleinerten sich die V_S -Werte um den Mittelwert von 14%. In 2% der Versuche blieben die Werte unverändert. Alle Herzen, die unter dem Einfluß des Cytochrom c eine Verkleinerung ihres Schlagvolumens zeigten, hatten nach der Druckbelastung keine hochgradige Hypodynamie erreicht.

Nach den Erfahrungen der Versuche mit ungeschädigten Herzen wurden Konzentrationen zwischen $1:10^4$ und $1:10^5$ verwendet. Der Effekt, der sich unter dem Einfluß des Wirkstoffes zeigt, scheint nicht an die Höhe der Konzentration gebunden zu sein. Abb. 7 zeigt die V_S -Werte als Funktion des arteriellen Druckes eines

Versuches mit hoher Konzentration (1:10 000). Bei $p=50$ cm H_2O steigt die Hubhöhe des Herzmuskels unter der Wirkung des Cytochrom c um 91% des entsprechenden Wertes unter der Wirkung von Tyrode Ib. Abb. 8 zeigt die Schlagvolumina als Funktion des arteriellen Druckes eines Versuches mit niedriger Konzentration (1:80 000). Der Anstieg der V_S -Werte unter der Wirkung des Cytochrom c ist noch stärker; bei $p=50$ cm H_2O sind es 156% des entsprechenden Wertes unter der Wirkung von Tyrode Ib. Cytochrom c zeigt nicht, wie viele herzwirksame Pharmaka, in hohen Konzentrationen einen toxischen Einfluß auf den Herzmuskel. Auf hypodynamie Herzen wirkt es stets im Sinne einer Schlagvolumenvergrößerung. Bei kräftigen Herzen ist die Wirkung gering, oder sie verläuft sogar im Sinne einer Schlagvolumenverkleinerung. In solchen Fällen sind aber die Differenzen der V_S -Werte unter Cytochrom c gegen die V_S -Werte unter Tyrode Ib so gering, daß sie die Fehlergrenze kaum überschreiten. Abb. 9 zeigt die Schlagvolumenveränderungen unter der Wirkung von Cytochrom c bei $p_A=30$ cm H_2O . Die Mittelwerte liegen alle im positiven Bereich. In einer Konzentration von 1:25 000 scheint die optimale Wirkung entfaltet zu werden. In 2 Versuchen mit dieser Konzentration jedoch erreichen die Schlagvolumensteigerungen unter dem Einfluß des Wirkstoffes so extrem hohe Werte (810% in Vers. 56 und 1 000% in Vers. 57), daß diese beiden Ergebnisse den Mittelwert stark in positiver Richtung beeinflussen. Bei einem Ausschluß dieser beiden Extremwerte beträgt der Mittelwert 40%. Die erste Hälfte der Kurve wird zu einer Geraden. Bei der niedrigen Konzentration von 1:80 000 steigt die Kurve

noch einmal an. Es erklärt sich dadurch, daß die Herzen, bei denen diese Konzentration angewendet wurde, nach der Druckbelastung alle verhältnismäßig stark hypodynam waren. So war stets die Voraussetzung für eine stärkere Wirkung gegeben.

Die enddiastolische Füllung der Herzen zeigt unter dem Einfluß des Wirkstoffes keine charakteristischen Veränderungen. In der Mehrzahl der Versuche sind sie so gering, daß sie unterhalb der Fehlergrenze liegen. Nur in Einzelfällen sind die Zu- oder Abnahmen der V_A -Werte gegenüber den entsprechenden Werten unter Tyrode Ib größer. Sie können aber nicht als Folge der Cytochromwirkung betrachtet werden. Diese Frage wird später noch eingehend besprochen.

C. Das isolierte, vergiftete Herz unter der Wirkung des Cytochrom c

1. Cyanidvergiftung

Die Blausäure übt ihre vergiftende Wirkung durch den Einfluß auf den respiratorischen Stoffwechsel aus, der stark gehemmt wird. Die Sauerstoffaufnahme sinkt ab (31). Sie ist ein ausgesprochenes Fermentgift. Als solches hemmt sie die Cytochromoxydase, die zur Verwertung des Sauerstoffes im intermediären Stoffwechsel unbedingt notwendig ist. Der der Zelle zugetragene Sauerstoff kann von ihr nicht verwertet werden; sie reagiert wie bei O_2 -Mangel (32).

28 Herzen von *R. esculenta* und *R. temporaria* wurden mit KCN vergiftet. Nach einem ersten Dehnungszyklus in Tyrode I wurde die Herzkanüle leergesogen und mit einer KCN-Tyrodेलösung in Konzentrationen von 1:1 000 bis 1:5 000 gefüllt. Mit dieser Lösung erfolgte die zweite Drucksteigerung, die aber bei starkem Absinken der V_S -Werte oder bei Herzstillstand abgebrochen wurde. Die Kammer wurde ausgespült und ein dritter Dehnungszyklus unter Tyrode schloß sich an, sofern der Herzmuskel sich noch oder wieder kontrahierte. Verharrete das Herz nach 15 Min. noch im Stillstand, dann fiel die dritte Drucksteigerung aus. Der weitere Verlauf der Versuche war der gleiche wie bei den vorhergehenden. Ein Dehnungszyklus unter der Wirkung von Cytochrom c in Konzentrationen von 1:25 000 bis 1:50 000 und ein letzter unter der Wirkung von Tyrode III schlossen sich an.

Nach W. Wirth (33) erholen sich isolierte mit KCN in Konzentrationen bis 1:5 000 ver-

giftete Kaltblüterherzen spontan. Er hatte seine Versuche an der Straub'schen Kanüle mit einer konstanten Füllung von 1 ml durchgeführt. Nach Flury-Heubner (34) ist für den Grad der Schädigung die Dauer der Einwirkung maßgebend. In den Versuchen mit Cytochrom c wurden deswegen hohe Konzentrationen verwendet, und die Dauer der Einwirkung wurde von der individuellen Reaktion der Froschherzen abhängig gemacht. In einem Versuch mit der KCN-Konzentration von 1:1 000 kam es während der Gifteinwirkung zum irreversiblen diastolischen Herzstillstand. In 6 Versuchen mit KCN-Konzentrationen von 1:4 000 bis 1:1 000 kam es ebenfalls während der Vergiftung zum diastolischen Herzstillstand, der während vielfacher Tyrodeausspülungen bestehen blieb. Nach der Füllung der Herzkanüle mit Cytochrom c-Lösung kam es zu arrhythmischen Kontraktionen. In 4 Versuchen, in denen die Cyanidlösung ebenfalls diastolischen Herzstillstand bewirkt hatte, kam es unter der Wirkung von Cytochrom c zu regelmäßiger Herzaktion. In 17 Versuchen kam es nicht zum Herzstillstand. Unter dem Einfluß des Giftes sank die Hubhöhe des Herzmuskels - besonders bei hoher arterieller Belastung - stark ab, bis zu 4% des entsprechenden V_S -Wertes unter der Wirkung von Tyrode I. In 14 Versuchen zeigte das Herz, nachdem die KCN-Lösung abgesogen und die Herzkanüle mit Tyrode gefüllt war, eine teilweise Erholung. Bei $p_A=50$ cm H_2O stiegen die Werte der Schlagvolumina gegen die entsprechenden unter der Wirkung des Giftes um den Mittelwert von 238% an. Die endgültige Erholung erfolgte unter der Wirkung des Cytochrom c. Bei $p_A=50$ cm H_2O vergrößert sich die Hubhöhe des Herzmuskels noch einmal um den mittleren Wert von 91% gegen den ent-

sprechenden mittleren Wert unter der Wirkung von Tyrode II.

Abb. 10 zeigt die V_S -Werte als Funktion des arteriellen Druckes des typischen Vers. 71. Die vergiftende Wirkung des Cyanids zeigt sich erst bei $p_A=30$ bis 50 cm H_2O . Die Zeitspanne zwischen dem Absaugen der KCN-Lösung und der Tyrode II-Drucksteigerung betrug in diesem Versuch 10, in anderen bis zu 20 Min. Die dann eintretende Erholung ist trotzdem nur eine unvollkommene. Die V_S -Werte erreichen erst unter dem Einfluß des Cytochrom c ihre ursprüngliche Größe oder sie übersteigen diese noch, wie die Abb. zeigt.

Die Schlagfrequenz sank während der Cyanidvergiftung regelmäßig ab. Bei $p_A=30$ cm H_2O betrug die mittlere Frequenz aller Versuche vor der Vergiftung 37, während der Vergiftung 23 und nach der Vergiftung bis zum Ende des Versuches zwischen 24 und 28 pro Min. Das Herz des Versuches 71 (Abb. 10) zeigt bei niederem p_A die kleinsten V_S -Werte unter der Wirkung von Tyrode I, die sogar während der Vergiftung vergrößert werden. Während des ersten Dehnungszyklus betrug die mittlere Frequenz 36. Unter dem Einfluß von KCN sank sie auf 18 ab und blieb so bis zu **Beginn** der letzten Drucksteigerung bestehen. Dann stieg sie auf 27 pro Min. an. Die verlangsamte Schlagfolge im Anschluß an die Giftwirkung brachte eine verlängerte Diastolendauer, eine verlängerte Erholungszeit für den Herzmuskel mit sich. Daher konnten unter dem Einfluß des Cytochrom c die V_S -Werte des ungeschädigten Herzens nicht nur erreicht, sondern überholt werden. Während des letzten Dehnungszyklus steigt die Frequenz, die V_S -Werte sinken etwas ab. Das gleiche Phänomen

findet sich in 10 von diesen Versuchen.

Die enddiastolischen Füllungen zeigen unter dem Einfluß der verschiedenen Wirkstoffe nur geringe und uncharakteristische Veränderungen, die später in anderem Zusammenhang eingehender besprochen werden.

2. Dinitrophenolvergiftung

2,4-Dinitrophenol zeichnet sich durch hohe Toxizität aus, die charakterisiert ist durch enorme Steigerung des respiratorischen Stoffwechsels. Der Sauerstoffverbrauch kann bis auf das 12-fache der Norm gesteigert werden (35). Die biochemischen Vorgänge bei der Vergiftung mit Dinitro-Substanzen sind nicht bis in alle Einzelheiten bekannt. Sie scheinen am Zitronensäurezyklus anzugreifen und die oxydativen Phosphorylierungen zu blockieren. Die bei der Verbrennung der Nahrungsmittel frei werdende Energie wird nicht mehr in energiereiche Phosphorverbindungen umgewandelt, sondern sie wird in Form von Wärme frei, was einen starken Temperaturanstieg zur Folge hat (36). Die Phosphorylierungsprozesse vor dem Eintritt in den Zitronensäurezyklus bleiben fast uneingeschränkt, während diejenigen, die mit dem Elektronentransport verbunden sind, fast vollständig gehemmt werden (37). Diese Tatsache ließ eine Behandlung der DNP-Vergiftung mit Cytochrom c, das bei dem Elektronentransport im Krebszyklus eine bedeutende Rolle spielt, aussichtsvoll erscheinen. Diese Frage zu klären war das Ziel der folgenden Versuche.

2,4-Dinitrophenol wirkte in Konzentrationen von $1:2 \times 10^5$ bis $1:2 \times 10^3$ auf das Froschherz ein, welches anschließend mit dem Cytochrom c in

der stets gleichen Konzentration von 1:25 000 behandelt wurde. Der Versuchsablauf war der schon im Zusammenhang mit der Cyanidvergiftung beschriebene. Die Stärke der Toxizität von DNP zeigt sich darin, daß sein Einfluß in 13 Versuchen einen diastolischen Herzstillstand zur Folge hatte. In drei von diesen Fällen war die niedrige Konzentration von $1:2 \times 10^5$ verwendet worden. Nur in einem Versuch (Vers. 81) nahm das Herz seine Aktion in unverminderter und regelmäßiger Folge unter der Wirkung des Cytochrom c wieder auf. Die V_S -Werte waren allerdings bis zu 41% gegen die entsprechenden Werte unter der Wirkung von Tyrode I kleiner, während die V_A -Werte bis zu 30% erhöht waren. In 12 Versuchen blieb der diastolische Herzstillstand irreversibel. In 4 Versuchen (Vers. 77, 82, 89, 147) wurde die Folge der Kontraktionen durch die DNP-Vergiftung nicht unterbrochen. Lediglich der Grad der Hypodynamie, ausgedrückt durch das Verhältnis V_S/V_A , wurde erhöht. Dieses Verhältnis als Funktion des arteriellen Druckes zeigt die Abb. 11. Es sind die Mittelwertskurven von 4 Versuchen. Die durch DNP hervorgerufene Hypodynamie wird unter der Wirkung von Tyrode II nur geringgradig verbessert. Erst unter dem Einfluß des Wirkstoffes Cytochrom c werden die Ausgangswerte wieder erreicht.

Sofern das Herz durch die DNP-Vergiftung nicht zum diastolischen Stillstand kam, wurde die Schlagfrequenz nicht verändert, weder infolge der Gifteinwirkung noch durch die Wirkung des Cytochrom c.

Stets dagegen ändert sich die enddiastolische

Füllung. In der DNP-Drucksteigerung sind die V_A -Werte um 8 bis 21% vergrößert. In jeder weiteren Drucksteigerung, auch unter der Wirkung von Tyrode II und Cytochrom c, wachsen sie durchweg um 9 bis 18% weiter an. In der letzten Drucksteigerung sind sie bis zu 63% der V_A -Werte der ersten Drucksteigerung unter der Wirkung von Tyrode I angestiegen.

3. Malachitgrünvergiftung

Malachitgrün ist ein basischer Farbstoff mit hoher Toxizität. Es soll bei Ratten den oxydativen Zellstoffwechsel in typischer Weise schädigen können (38,39). Therapeutische Bedeutung hat es erlangt durch seine bakterizide und bakteriostatische (40), vermizide (41) und antimykotische (42) Wirkung. Spezielle pharmakologische Untersuchungen mit diesem Gift wurden bereits am isolierten, spontan schlagenden Froschherzen in der Anordnung nach Straub durchgeführt. Das Ergebnis war, daß in Konzentrationen bis $1:10^6$ keine Änderungen in der Herzdynamik festgestellt werden konnten. Erst bei höheren Konzentrationen ($1:10^5$) begannen die enddiastolischen Fußpunkte zu steigen, die Hubhöhe nahm ab und es kam zum irreversiblen Herzstillstand in Systole (41).

In den folgenden Versuchen wurde die Wirkung des Cytochrom c auf das isolierte mit Malachitgrün vergiftete Froschherz untersucht. Der Versuchsablauf war der gleiche wie bei den KCN- und DNP-Vergiftungen. An Stelle von Tyrode wurde Froschserum verwendet. Über die Gewinnung wird später berichtet. Die Malachitgrünkonzentrationen wurden sehr hoch gewählt - $1:10^5$ bis $1:10^4$ - trotzdem kam kein Herz zum Stillstand. Es ist bekannt, daß die bakterizide Wirkung der Triphenylmethanfarbstoffe

durch Gegenwart organischer Stoffe stark herabgesetzt wird (31). Es wäre daran zu denken, daß auch die zellschädigende Wirkung durch Gegenwart solcher Stoffe, in diesem Falle des Serums, gemindert wird.

Bis zur Konzentration von 1:50 000 konnte Malachitgrün die Hubhöhe des Herzmuskels nicht verringern. Während dieser Versuche blieb die Dynamik des Herzens bis nach der letzten Drucksteigerung völlig unverändert. Erst bei der Konzentration von 1:25 000 sanken die V_S -Werte unter der Wirkung des Giftes ab, jedoch nicht mehr als um 28% der Ausgangswerte. Deutliche Schädigungen zeigten sich erst bei noch höheren Konzentrationen. (vgl. Abb. 12) Die erreichte Hypodynamie des Herzens war durch mehrmaliges Ausspülen der Kammer mit Serum nicht zu beheben und blieb auch während der folgenden Drucksteigerung bestehen. Im Gegensatz zu den Ergebnissen der bisherigen Versuche blieb Cytochrom c hier völlig wirkungslos. Es wurde stets in der Konzentration von 1:25 000 verwendet. In dem Versuch, den die Abb. 12 zeigt, sinken die V_S -Werte noch weiter ab. Die Schädigung schreitet fort und ist irreversibel.

Die Abb. 13 zeigt die mittleren Schlagvolumenänderungen von 3 Herzen unter der Wirkung von Malachitgrün und Cytochrom c. Es sind Versuche, in denen die Vergiftung jeweils eine leichtere oder stärkere Hypodynamie des Herzens zur Folge hatte. Diese Kurven zeigen ebenfalls, daß die Myocardschwäche durch Cytochrom c nicht zu beeinflussen ist, sondern weiter fortschreitet.

Die Zeichen der Schädigung des Herzmuskels durch Malachitgrün sind die gleichen wie bei der KCN- und DNP-Vergiftung und bei der langen Druckbelastung, nämlich eine mehr oder weniger

starke Verkleinerung der Schlagvolumina ohne signifikante Änderung der enddiastolischen Füllungen und ohne Erhöhung der Schlagfrequenz. Es scheint sich also auch hier um einen den Myocardstoffwechsel schädigenden Wirkungsmechanismus zu handeln, der ihn außerstande setzt, die für die einwandfreie Dynamik des Herzmuskels notwendige Energie zu liefern. Trotzdem bleibt Cytochrom c hier wirkungslos.

D. Kontrollversuche

1. Cytochrom c ist durch Protamin ersetzt

Cytochrom c ist ein Hämoprotein, d.h. es besteht aus einem Protein und der prosthetischen Gruppe. Die Proteinanalyse des Cytochrom c vom Rind zeigt, daß der Hämingruppe nur ein äußerst geringer Anteil im Molekül bleibt (43). Die chemischen Bindungen sind von besonderer Stabilität.

Es erhob sich die Frage, welcher Teil des Moleküls für die Wirksamkeit auf die Herzmuskelzelle verantwortlich zu machen ist. Um sie zu klären, wurden Versuche durchgeführt, in denen Cytochrom c durch reine Eiweißkörper ersetzt war. Zur Verwendung kam Protamin vom Hering, das gerade zur Verfügung stand.

6 Herzen (Vers. 109 - 114) wurden einer Druckbelastung von 30 cm H₂O bis zu 20 Min. ausgesetzt. Nachdem sie geringgradig hypodynam waren, wurde der Tyrode, die zu der Druckbelastung schon verwendet worden war, Protamin in Konzentrationen von 1:50 000 bis 1:10 000 zugegeben. Im übrigen waren Versuchsablauf und -bedingungen die gleichen wie bei den entsprechenden Cytochrom c-Versuchen. Im ersten Versuch mit der höchsten Konzentration kam das Herz sofort zum diastolischen Stillstand. Nach mehrmaligem Ausspülen der Kammer mit Tyrode zeigten sich nur kurzdauernde arrhythmische Zuckungen, die bald wieder verschwanden. In 2 weiteren Versuchen löste die Wirkung des Protamins Arrhythmien und zeitweiligen Herzstillstand aus. In den 3 letzten Versuchen sanken die V_S -Werte des schon hypo-

dynamen Herzens unter dem Einfluß des Eiweißes noch weiter ab. Die V_A -Werte nehmen ebenfalls, zwar in geringerem Maße, jedoch regelmäßig ab; sie sinken bis auf 75% der Ausgangswerte der Tyrode I. Die Abb. 14 zeigt die Schlagvolumina als Funktion der enddiastolischen Füllungen von Vers. 114. Sie läßt erkennen, daß das Herz schon während des ersten Dehnungszyklus - nach einer Druckbelastung von 13 Min. bei $p_A=30$ cm H_2O - eine Hypodynamie aufweist ($V_S-V_A=84/230=0,37$ bei $p_A=30$ cm H_2O). Unter dem Einfluß des Protamins nimmt die Hypodynamie zu ($V_S/V_A=58/204=0,28$ bei $p_A=30$ cm H_2O). Nach mehrmaligem Ausspülen mit Tyrode wird die Myocardschädigung nicht aufgehoben. Sie kommt nicht einmal zum Stillstand, sondern sie schreitet fort bis zum diastolischen Herzstillstand bei fallendem Druck im 3. Dehnungszyklus. (Die Werte bei fallendem Druck sind in der Abb. nicht dargestellt.)

Das Ziel der Versuche war die Feststellung, ob ein einfaches Protein die gleiche Wirkung auf die Dynamik des Froschherzens ausübt wie das Cytochrom c. Das Ergebnis war insofern nicht befriedigend, als Protamin eine der des Cytochrom c entgegengesetzte Wirksamkeit zeigte. Die Hubhöhe wurde verkleinert bis zum völligen Herzstillstand, die enddiastolischen Füllungen nahmen ab bei gleichbleibender Frequenz. Es ist unwahrscheinlich, daß ein Protein im Verband mit einer prosthetischen Gruppe bis zu Konzentrationen von $1:10^3$ die Herzdynamik positiv beeinflusst, und daß das gleiche Protein ohne prosthetische Gruppe in der Konzentration von $1:5 \times 10^4$ das Herz bis zum Stillstand schädigt. Folglich liegt die Vermutung nahe, daß das verwendete Protamin sich dem isolierten

Froschherzen gegenüber anders verhält als sich das Protein des Cytochrom c verhalten würde. Die Ergebnisse beantworten also die gestellte Frage nach dem wirksamen Anteil des Cytochrom c-Moleküls nicht.

2. Cytochrom c ist durch Myoglobin ersetzt

Myoglobin ist - wie Cytochrom c - ein Protein mit einer prosthetischen Gruppe. Es ist ein dem Hämoglobin ähnliches Atmungspigment, das im Muskel vorkommt. Die Affinität zum Sauerstoff ist bedeutend größer als die des Hämoglobins.

Um der Frage näher zu kommen, ob die Herzwirksamkeit des Cytochrom c der Hämingruppe oder dem Protein zuzuschreiben ist, wurde es in den folgenden Versuchen durch ein anderes Protein ersetzt. Myoglobin, ebenfalls aus Pferdeherz von der Fa. Mack, Illertissen hergestellt, wurde in etwa den gleichen Konzentrationen verwendet wie früher Cytochrom c. 19 Froschherzen wurden geschwächt, indem sie bis zu 70 Min. lang unter einer arteriellen Druckbelastung bis zu 40 cm H₂O arbeiteten. Der Versuchsablauf war im übrigen der gleiche wie der unter III B. beschriebene.

In Konzentrationen bis zu 10^{-4} konnte Myoglobin die Hubhöhe des hypodynamen Herzmuskels vergrößern. Jedoch waren diese Vergrößerungen der V_S -Werte bei weitem nicht so ungewöhnlich noch wie unter der Cytochrom c-Wirkung. Sie betrug maximal 98% des V_S -Wertes unter Tyrode I. Enddiastolische Füllung und Frequenz blieben dabei unverändert. In Myoglobinkonzentrationen unter 10^{-4} blieben alle meßbaren Größen der

Herztätigkeit nahezu unverändert. In höheren Konzentrationen war Myoglobin also imstande, einen ähnlichen Einfluß auf das Myocard auszuüben wie Cytochrom c.

Nun war noch zu klären, ob außer der höheren Grenzkonzentration auch die Intensität der Wirkung eine andere wäre. Um genau meßbare und vergleichbare Unterschiede erkennen zu können, wurden am gleichen Herzen nacheinander Drucksteigerungen mit Myoglobin und Cytochrom c vorgenommen. Die Konzentration wurde je so gewählt, wie sie in vorhergehenden Versuchen sicher wirksam gewesen war. Das Kurvenpaar der Abb. 15 zeigt, daß die Hubhöhe des Herzmuskels unter der Wirkung von Cytochrom c zwar nur wenig aber doch mehr vergrößert wird als unter der Wirkung des Myoglobin. Insgesamt sind die Vergrößerungen der V_S -Werte gegenüber früheren Versuchen gering. Eine Erklärung ist wohl darin zu finden, daß diese Herzen nach der Druckbelastung keine sehr starke Hypodynamie erreicht hatten. Das durchschnittliche Verhältnis V_S/V_A bei $p_A=40$ cm H_2O für diese 3 Versuche betrug unter der Wirkung von Tyrode I 0,66, unter der Wirkung des Myoglobin 0,71. Ein solcher Wert konnte unter dem Einfluß des Cytochrom c natürlich nicht wesentlich verbessert werden, auch in früheren Versuchen nicht. In diesem Fall bleibt er sogar gleich. Der Dehnungszyklus mit Myoglobin erfolgte jeweils vor demjenigen mit Cytochrom c.

Die Zeichen der Wirksamkeit des Atmungs-pigmentes Myoglobin sind die gleichen wie die der Wirksamkeit des Atmungsfermentes Cytochrom c, nämlich Vergrößerung der Schlagvolumina des hypodynamen Herzens bei gleichen enddiastoli-

schen Füllungen und bei gleichbleibenden Frequenzen. Beide sind aus Pferdeherz gewonnene Proteide, deren Protaminanteile sich sicher nicht sehr wesentlich von einander unterscheiden, daß man ihnen die verschieden starke Wirkung auf den Herzmuskel zuschreiben könnte. Die Vermutung, daß die prosthetischen Gruppen für die Wirksamkeit verantwortlich zu machen sind, wird gestärkt.

3. Tyrode ist durch Froschserum ersetzt

Ein weiterer Versuch festzustellen, ob reine Eiweißkörper die Dynamik des Froschherzens zu beeinflussen vermögen, bestand darin, daß die Herzen nicht mehr wie bisher in Tyrodelösung sondern in Froschserum schlugen. Diese Methode ermöglichte gleichzeitig die Feststellung, ob der Effekt des Cytochrom c im Beisein von Protein derselbe ist wie im Beisein von anorganischen Verbindungen. Man kam außerdem den physiologischen Verhältnissen näher.

Da zu einem Versuch die Serummenge von etwa 30 Fröschen notwendig war, wurden 1 000 Esculenten mit Äther oder Chloroform narkotisiert. (Nach der Chloroformnarkose schien das Blut zentralisierter zu sein.) Dann wurde jedem Frosch unterhalb des Sternums die Bauchwand eröffnet, die Herzspitze angeschnitten und eine Glaskanüle in die Kammer eingeführt. 1 bis 2 ml Blut konnten pro Herz abgesogen werden. Zur Gerinnungshinderung war die Kanüle vor dem Absaugen mit 0,25 ml Titriplexlösung (0,75 g NaCl + 0,73 g Titriplex + Aqua bid. ad 100 ml) angefüllt. Nach dem Zentrifugieren des Blutes wurde das Serum dialysiert.

10 Versuche wurden mit dem gewonnenen Serum durchgeführt. Die Herzen wurden auch hier durch längere Belastung mit arteriellen Drucken bis zu 40 cm H₂O geschwächt. Wären die Proteine des Serums imstande gewesen, den gleichen Effekt wie Cytochrom c am Herzen auszulösen, so wäre die Hypodynamie erst nach längerer Zeit zu erwarten gewesen als in den Tyrodeversuchen. Kein Herz aber arbeitete länger als 30 Min. gegen einen Druck von $p_A = 30$ cm H₂O an, bis eine deutliche zum Teil hochgradige Hypodynamie zu erkennen war. Bei $p_A = 40$ cm H₂O war das Verhältnis V_S/V_A immer unter 0,41. In den Versuchen mit Tyrodelösung arbeiteten verschiedene Herzen bis zu 2 Std. gegen den gleichen Druck an, bevor sie so stark geschwächt waren. Das Serum konnte also die Leistung des Herzens nicht verbessern.

Dem bei der Druckbelastung und beim ersten Dehnungszyklus verwendeten Serum wurde Cytochrom c in Konzentrationen von 1:50 000 bis 1:10 000 zugegeben. In allen Versuchen steigt die Hubhöhe des Herzmuskels bei der folgenden Drucksteigerung an, besonders stark bei unphysiologisch hohen Drucken. Bei $p_A = 40$ cm H₂O wachsen sie bis zu 970% der entsprechenden Werte unter der Wirkung von Serum I. Als Beispiel zeigt die Abb. 16 die Werte des Vers. 119. Bei fast gleicher Anfangsfüllung sind die V_S -Werte unter dem Einfluß des Wirkstoffes stark erhöht. Die Differenzen der einzelnen Werte werden allerdings erst da sichtbar, wo auch die Hypodynamie sichtbar wird, nämlich bei $p_A = 20$ cm H₂O. In jedem dieser Versuche war der Cytochrom c-Effekt deutlich und gleichgerichtet. Die Größe der Wirkung ist auch hier abhängig von der Ausgangshypodynamie des

Herzens. Das mittlere Verhältnis V_S/V_A bei $p_A=30$ cm H_2O beträgt für diese Versuche nach der Druckbelastung 0,39, nach dem Einfluß des Wirkstoffes 0,77. Daß Cytochrom c in diesen Versuchen ausnahmslos einen positiven Effekt erkennen läßt, liegt wohl daran, daß die Druckbelastung kaum Arrhythmien oder Herzstillstand auslöst, wenn Serum verwendet wird. In den Tyrodeversuchen war das eine häufige Komplikation, die es unmöglich machte, den Herzmuskel weiter zu schwächen. In den Serumversuchen konnte daher leichter die Voraussetzung für eine deutlich sichtbare Cytochrom c-Wirkung, nämlich die Ausgangshypodynamie, geschaffen werden.

Die Ergebnisse dieser letzten Versuchsreihe lassen also erkennen, daß Froschserum alleine keine Herzwirksamkeit zeigt. Reine Eiweißkörper beeinflussen die Dynamik des isolierten Herzens nicht. Die Wirksamkeit des Cytochrom c wird durch Anwesenheit von Serum sicher nicht beeinträchtigt und anscheinend auch nicht gefördert. Die Kontinuität der positiven Ergebnisse beruht - wie schon erwähnt - auf anderen Tatsachen.

IV. F o l g e r u n g e n

A. Das Schlagvolumen unter der Wirkung des Cytochrom c

Die Schlagvolumenvergrößerungen, die unter der Wirkung des Cytochrom c auf das Froschherz zustande kamen, sind zum Teil nur gering, häufig aber sind sie ungewöhnlich hoch. Auf der Suche nach der Ursache dieser verschiedenen starken Wirksamkeit fand sich eine deutliche Abhängigkeit von der Ausgangshypodynamie. Je schwächer das Herz aufgrund einer Belastung oder Schädigung war, desto größer war die Wirkung des Cytochrom c im Sinne einer Steigerung der V_S -Werte. Die prozentuale Vergrößerung der Hubhöhe als Funktion der Ausgangshypodynamie - ausgedrückt durch das Verhältnis V_S/V_A - ergibt eine charakteristische Kurve (Abb. 17). Bei wachsender Herzkraft fällt sie anfangs steil ab, wird dann flacher und nähert sich da, wo man schon nicht mehr von einer Hypodynamie sprechen kann, wo also eine Schlagvolumenvergrößerung nicht mehr möglich ist, dem o-Wert. Sie ist die Mittelwertskurve aller Versuche, in denen Cytochrom c zur Verwendung kam.

Neben der enddiastolischen Füllung beeinflußt auch der arterielle Belastungsdruck des Herzens die Größe des Schlagvolumens (44). Die Methode ermöglichte den Vergleich von V_S -Werten vor, während und nach dem Einfluß der wirksamen Substanz bei genau gleichen

Drucken. Nur so konnte 1. ein Einfluß des Wirkstoffes überhaupt sicher ermittelt werden und 2. die Stärke der Wirkung auf das Schlagvolumen bei verschieden hohem arteriellem Belastungsdruck gemessen werden. Häufig trat die Hypodynamie nach der Druckbelastung oder Vergiftung erst bei höheren und besonders bei unphysiologisch hohen Drucken deutlich in Erscheinung. Diese Tatsache kann wohl als Grund dafür angesehen werden, daß auch die Wirkung des Cytochrom c bei höheren arteriellen Drucken relativ größer war. Bei minimalen Werten des endsystolischen Restvolumens ist die Hubhöhe des Herzmuskels nicht zu verbessern.

Gelegentlich übte der Einfluß des Cytochrom c, unabhängig von der Höhe der Konzentration, auch einen depressiven Effekt auf die Kontraktionskraft des Herzens - gemessen an der Hubhöhe - aus. Dieser Effekt war aber 1. stets gering, 2. trat er nur dann auf, wenn die Kontraktionskraft des Herzens vorher kaum oder nicht gemindert war. 3. wurden die V_S -Werte während der letzten Kontrollsteigerung im Anschluß an die Drucksteigerung unter dem Einfluß des Wirkstoffes nie wieder deutlich vergrößert. Diese letzte Tatsache und die Seltenheit des Auftretens dieser Erscheinung sprechen dafür, daß nicht eine spezifische Reaktion des Myocards auf Cytochrom c vorliegt, sondern daß es sich um irgend einen Fehler im Versuchsablauf oder um einen unkontrollierten Einfluß handelte.

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse scheinen nachstehende Folgerungen gesichert zu sein:

1. Cytochrom c hat sich als eine herzwirksame Substanz erwiesen.

2. Der Einfluß zeigt sich in der Steigerung

der Hubhöhe des Herzmuskels.

3. Die Größe der Wirkung ist abhängig vom Grad der Ausgangshypodynamie. Je kleiner die Kontraktionskraft des Herzens, desto größer die Wirkung des Cytochrom c, je größer die Kontraktionskraft, desto kleiner die Wirkung. Bei völlig ungeschwächter und ungeschädigter Kontraktionskraft kann die Wirkung fehlen (oder vielleicht in geringem Maße in negativer Richtung verlaufen).

B. Die enddiastolische Füllung unter der Wirkung
des Cytochrom c

Wie schon erwähnt, ist das Schlagvolumen unter anderem abhängig von der enddiastolischen Füllung des Herzens. Um die Art der Wirkung des Cytochrom c auf die Herzmuskelzelle beurteilen zu können, ist es notwendig, die Wirkung auf die Anfangsfüllung zu betrachten. Von allen Herzen ist die Kurve der isotonischen Minima jedes einzelnen Dehnungszyklus gezeichnet worden. Nur selten war sie innerhalb eines Versuches um größere Werte verschoben; diese wenigen Verschiebungen betrafen nicht nur die Drucksteigerung unter dem Einfluß des Wirkstoffes sondern auch der Kontrollsteigerungen. Die Häufigkeitskurven dieser V_A -Wert-Veränderungen bei $p_A = 30 \text{ cm H}_2\text{O}$ stellt die Abb. 18 dar. Folgende Tatsachen lassen sich an ihnen ablesen:

1. In der Mehrzahl der Versuche ändert sich die enddiastolische Füllung nicht signifikant.
2. Die Veränderungen betreffen die Drucksteigerungen während der Cytochrom c-Wirkung ebenso wie die anschließende Kontrollsteigerung unter der Wirkung von Tyrode II.
3. Die V_A -Werte ändern sich sowohl in positiver als auch in negativer Richtung - unabhängig von der Konzentration des Cytochrom c.
4. Die Veränderungen in positiver Richtung überwiegen.

Betrachtet man die Zunahmen der V_A -Werte als passive Faserverlängerungen infolge der unphysiologisch hohen Drucke, dann fehlt die Erklärung für die Verkleinerungen der V_A -Werte. Man wird eher an eine veränderte Tonusfunktion des Herzmuskels denken müssen. (45).

Dabei handelt es sich nicht um Kontraktionsrückstände, die sich durch eine Erhöhung der Schlagfrequenz ausgebildet und V_A -Verkleinerungen mit sich gebracht haben könnten oder die sich umgekehrt durch Erniedrigung der Schlagfrequenz gelöst und V_A -Vergrößerungen zur Folge gehabt hätten. Die Schlagfrequenzen der Herzen mit Änderungen der enddiastolischen Füllung liegen zwischen 12 und 35 pro Min. Wezler fand für das Bestehen von Kontraktionsrückständen am isolierten Froschherzen eine Grenzfrequenz von 27 Schlägen pro Min. (45). Es kann sich hier also zum mindesten nicht nur um solche handeln, zumal sich die Schlagfolge mit der Änderung der V_A -Werte in der positiven oder negativen Richtung nicht oder kaum ändert. Der verschieden große diastolische Tonus am gleichen Herzen scheint also eine gelegentliche individuelle Reaktion zu sein; daß sie Folge des Einflusses von Cytochrom c ist, ist unwahrscheinlich, denn die Größe der enddiastolischen Füllung ändert sich 1. zu selten, 2. in entgegengesetzten Richtungen, 3. unabhängig von der Cytochrom c-Konzentration und 4. ändert sie sich auch unter dem Einfluß von Tyrode.

Diese Ergebnisse machen deutlich, daß die Schlagvolumenvergrößerungen unter der Wirkung von Cytochrom c nicht mit Vergrößerungen der enddiastolischen Füllung bei gleichem arteriellem Druck einhergehen. Der Effekt ist also nicht Folge einer verschiedenen Faserlänge des Myocards, sondern es ist anzunehmen, daß Cytochrom c einen direkten Einfluß auf die Hubhöhe des Herzmuskels unabhängig von der enddiastolischen Füllung und - wie vorher schon dargelegt - unabhängig vom arteriellen Belastungsdruck ausübt.

C. Die wirksame Cytochrom c-Konzentration

In den Versuchen mit ungeschwächten und ungeschädigten Herzen wurde Cytochrom c in Konzentrationen zwischen 10^{-6} und 10^{-3} angewendet. Nur die schwächste Dosis 10^{-6} blieb völlig ohne Wirkung (vgl. Abb. 3). Alle anderen Dosen entfalteten ähnlich starke Wirkungen. Da die Stärke der Wirksamkeit der Substanz vom inneren Zustand des einzelnen Herzens abhängt, können die verschiedenen starken Effekte nicht ausschließlich als Folge der jeweiligen Konzentration angesehen werden. Es war also notwendig, am gleichen Herzen den Einfluß verschiedener Cytochrom c-Dosen zu prüfen. Abb. 19 zeigt die Kurven der isotonischen Maxima und Minima eines Herzens unter der Wirkung von 3 verschiedenen Konzentrationen der Substanz. Nach vorheriger Druckbelastung ist die Kontraktionsstärke des Herzmuskels stark abgesunken. Die erste Dosis von 1:50 000 zeigt einen starken Effekt. Unter der Wirkung der beiden stärkeren Dosen - 1:25 000 und 1:6 000 - steigen die enddiastolischen und die endsystolischen Werte - letztere etwas stärker - an. Die V_S -Werte bleiben in der gleichen Größenordnung. Die verschiedenen Dosen, deren Größe stark variiert, haben den gleichen Effekt zur Folge, nämlich eine Steigerung der Hubhöhe auf ein Maximum. Es gibt keine Konzentration, die so hoch wäre, daß sie eine toxische Wirkung auf den Herzmuskel ausüben könnte. Die untere Grenzdosis, die noch eine Wirksamkeit in Form einer Schlagvolumenvergrößerung erkennen läßt, ist 1:100 000. Unter ihrer Wirkung erreicht der Herzmuskel ebenso seine für den entsprechenden arteriellen Belastungsdruck maximale Hubhöhe wie unter dem Einfluß jeder höheren Cytochrom c-Konzentration.

V. Zusammenfassung

In der von Neuroth und Wezler beschriebenen Versuchsanordnung wurde die Wirksamkeit des Cytochrom c an 170 isolierten, spontan schlagenden Froschherzen, die ungeschädigt und durch längere Druckbelastung oder durch Vergiftung geschädigt waren, untersucht.

In den Versuchen mit ungeschädigten Herzen änderten sich unter der Wirkung des Fermentes weder die enddiastolische Füllung noch das Schlagvolumen. Nur dann, wenn das Herz eine spontan eingetretene Hypodynamie zeigte, trat im Dehnungszyklus mit Cytochrom c-Zusatz eine Vergrößerung von V_S ein.

Deutlich war die Zunahme der V_S -Werte unter der Wirkung von Cytochrom c an den Herzen, die durch längere arterielle Druckbelastung geschwächt waren.

Während und nach der KCN-Vergiftung kam es vielfach zum Herzstillstand, der auch unter dem Einfluß des Fermentes nicht reversibel war. Eine infolge der Vergiftung eingetretene Hypodynamie des Herzmuskels bei fortbestehender Schlagfolge konnte durch Cytochrom c-Einwirkung rückgängig gemacht werden.

In 12 der Versuche mit Dinitrophenolvergiftung kam es zum irreversiblen diastolischen Herzstillstand. In 4 Versuchen wurde eine durch DNP hervorgerufene geringgradige Hypodynamie unter dem Einfluß des Wirkstoffes Cytochrom c rückgängig gemacht.

Nach der DNP-Vergiftung wuchs in jeder Drucksteigerung - unabhängig von dem Wirkstoff - die enddiastolische Füllung.

In den Versuchen mit Malachitgrünvergiftung wurde anstatt Tyrode Froschserum verwendet. Kein Herz kam zum Stillstand. Nur durch hohe Konzentrationen des Giftes war die Dynamik der Herzen im negativen Sinne zu beeinflussen. Hier blieb Cytochrom c - im Gegensatz zu den bisherigen Versuchen - wirkungslos.

Protamin, durch welches Cytochrom c in Kontrollversuchen ersetzt wurde, löste Arrhythmien und Stillstand der Herzen aus.

Myoglobin, welches ebenfalls an Stelle des Cytochrom c der Tyrode zugesetzt wurde, vermochte die Hubhöhe des hypodynamen Herzmuskels zu vergrößern. Jedoch waren diese Vergrößerungen der V_S -Werte bei weitem nicht so ungewöhnlich hoch wie unter der Cytochrom c-Wirkung.

War Tyrode durch Froschserum ersetzt, so zeigte dieses alleine keine Herzwirksamkeit. Die Wirkung des Cytochrom c auf den hypodynamen Herzmuskel schien durch die Anwesenheit von Serum nicht beeinflußt zu werden.

Cytochrom c hat sich demnach als eine herzwirksame Substanz erwiesen. Der Einfluß zeigt sich in der Steigerung der Hubhöhe des Herzmuskels. Die Größe der Wirkung ist abhängig vom Grad der Ausgangshypodynamie.

Die enddiastolische Füllung ändert sich unter der Wirkung des Cytochrom c nicht signifikant.

Von der Konzentration des Fermentes ist die Wirkung nicht abhängig. Auch hohe Dosen zeigen keinen toxischen Effekt am Herzmuskel.

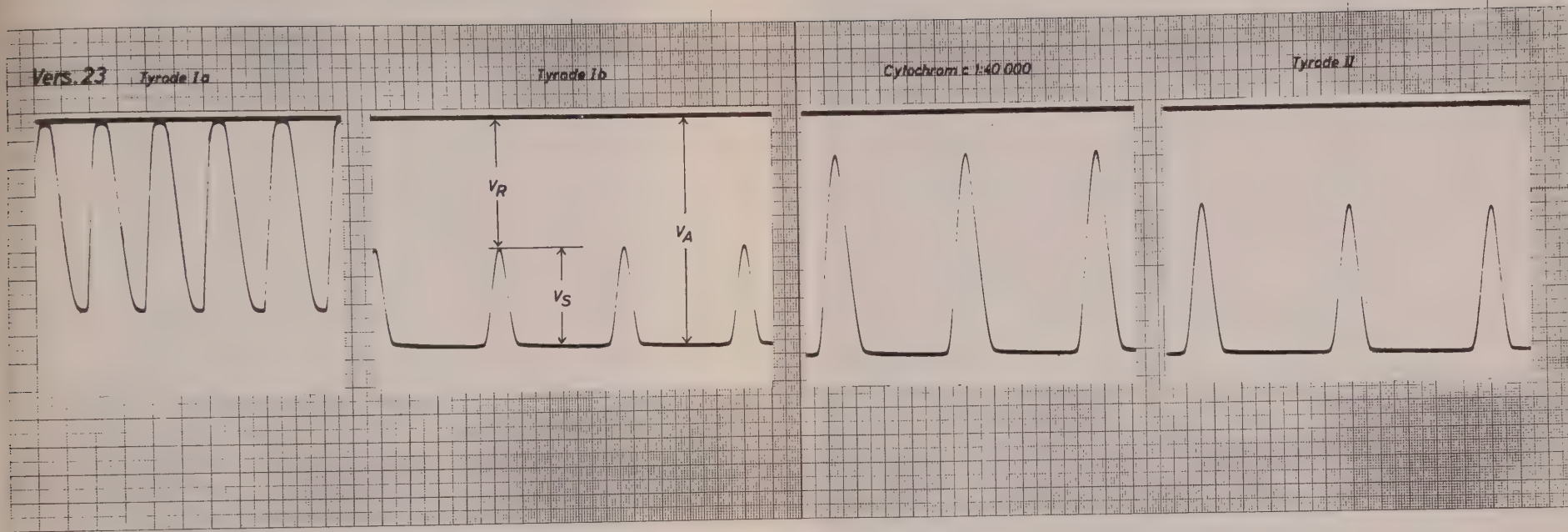


Abb. 1 : Originalkurven der isotonischen Kontraktion des Herzens vor und nach der Druckbelastung, während und nach der Cytochrom c-Einwirkung.

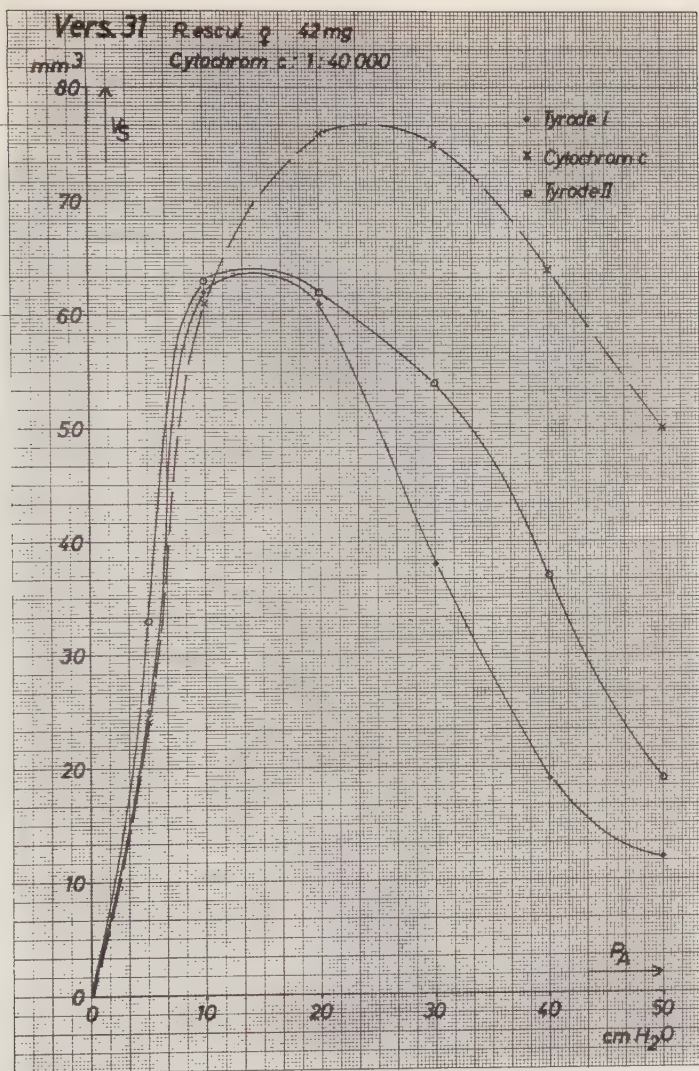
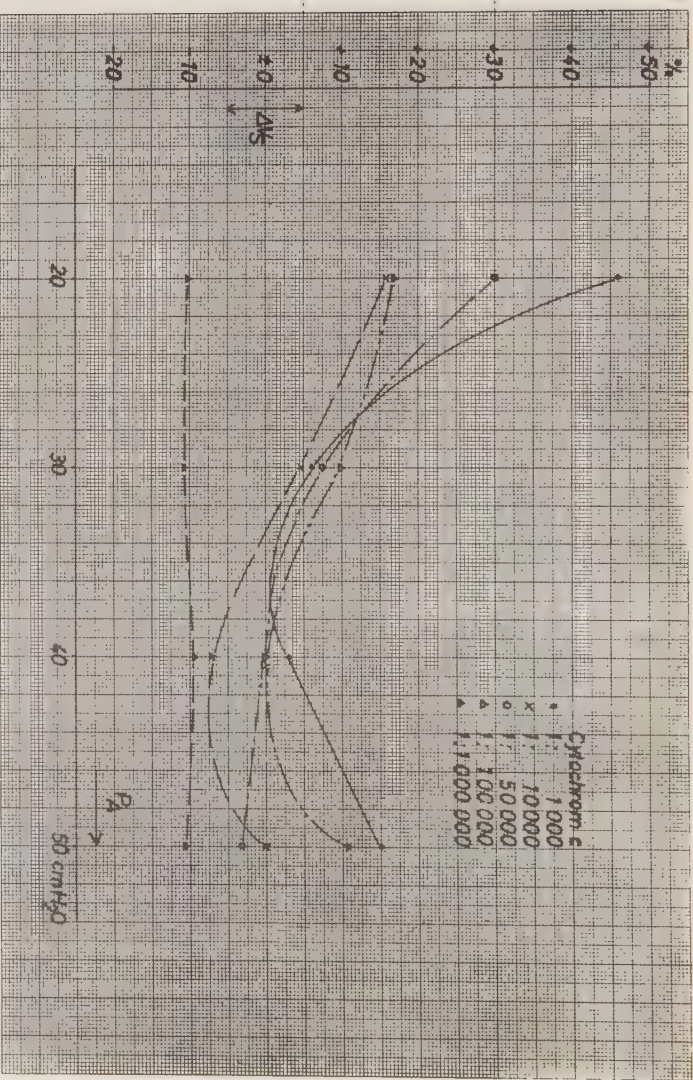


Abb. 2 : Schlagvolumen eines Esculenten-Herzens von Versuch 31 als Funktion des Belastungsdruckes p_A unter der Wirkung von Tyrode und Cytochrom c 1 : 80 000.



Abbs. 3 : $\Delta V_S (\%)$ als Funktion von P_a für 5 verschiedene Cytochrom c-Konzentrationen bei steigendem arteriellem Belastungsdruck.

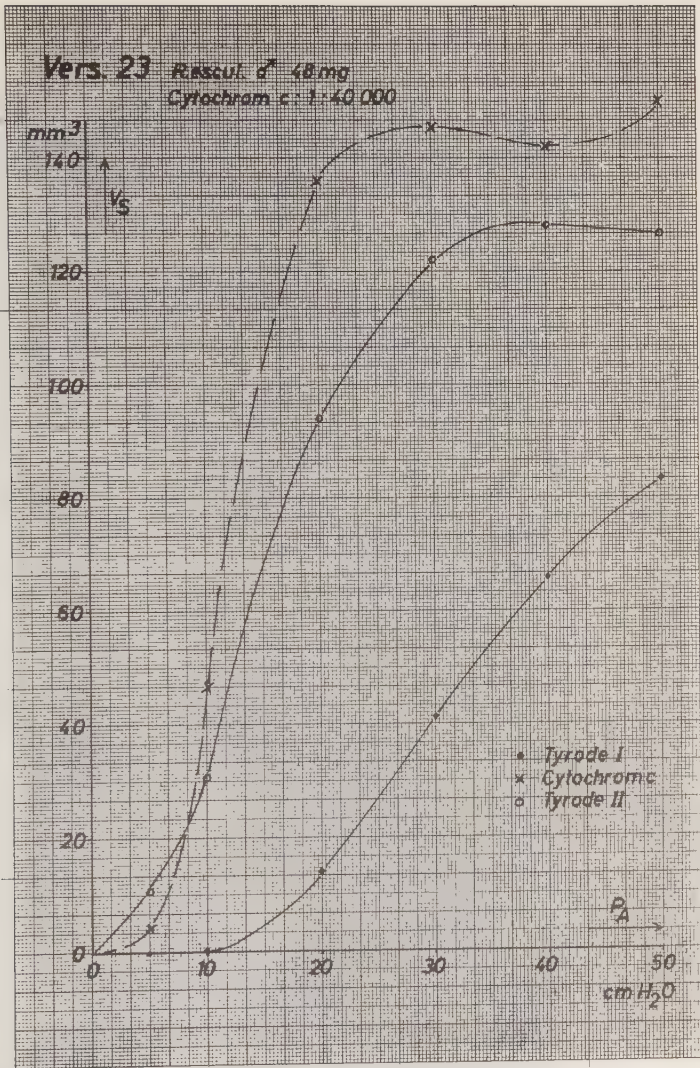


Abb. 4 : Schlagvolumen eines Esculenten-Herzens von Versuch 25 als Funktion des Belastungsdruckes p_A unter der Wirkung von Tyrode und Cytochrom c 1 : 40 000.

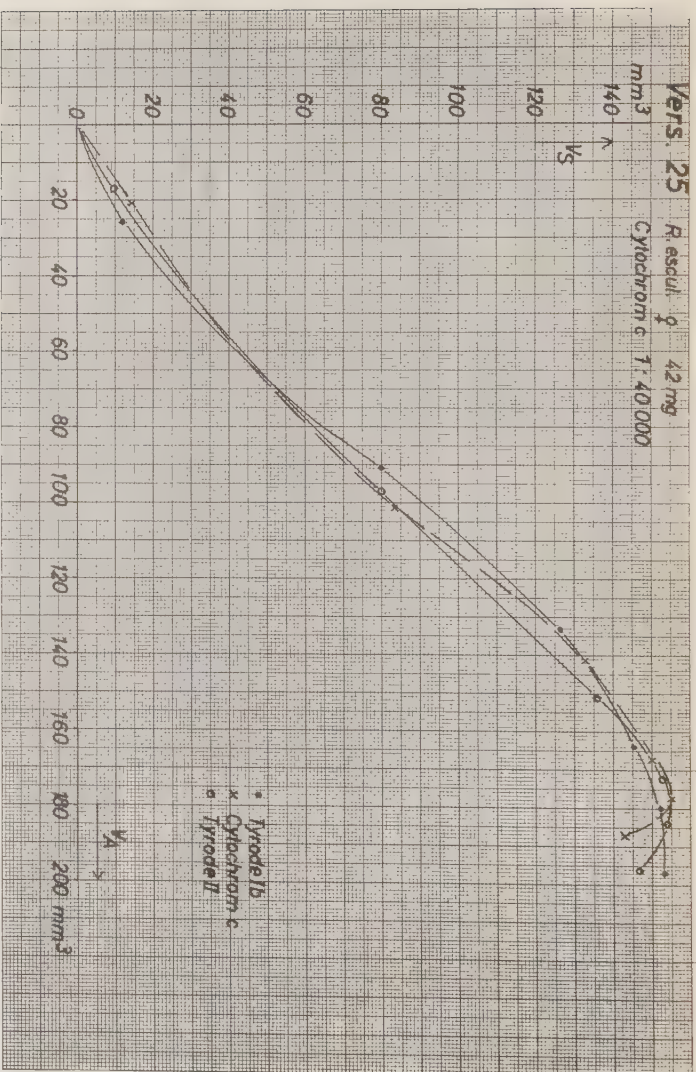


Abb. 5 : V_S als Funktion der Anfangsfüllung V_A für
 das Esculenten-Herz von Versuch 25 unter der
 Wirkung von Tyrode und Cytochrom c 1:40 000.

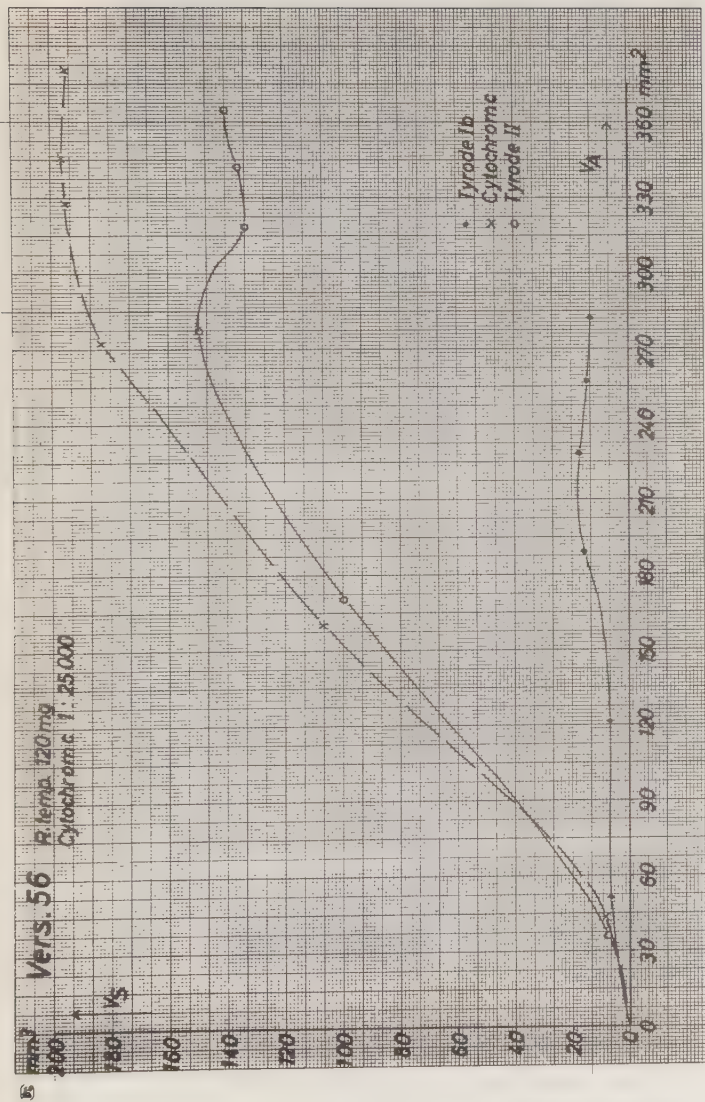


Abb. 6 : V_S als Funktion von V_A für das Temporären-Herz von Versuch 56 unter der Wirkung von Tyrode und Cytochrom c 1 : 25 000 (starke Zunahme der V_S -Werte).

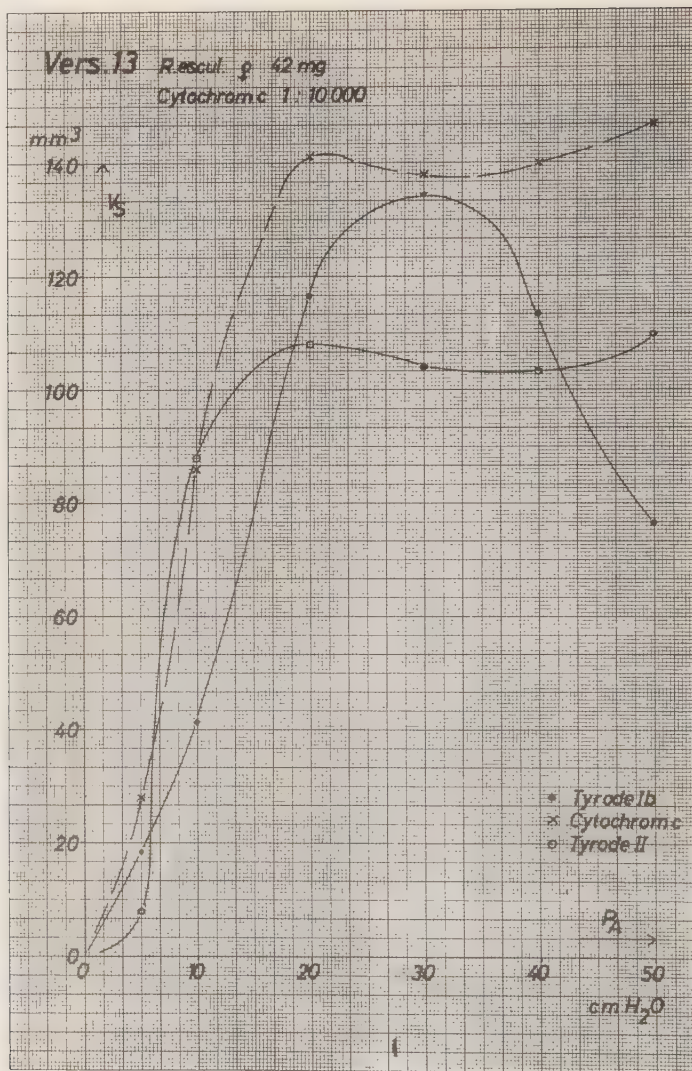
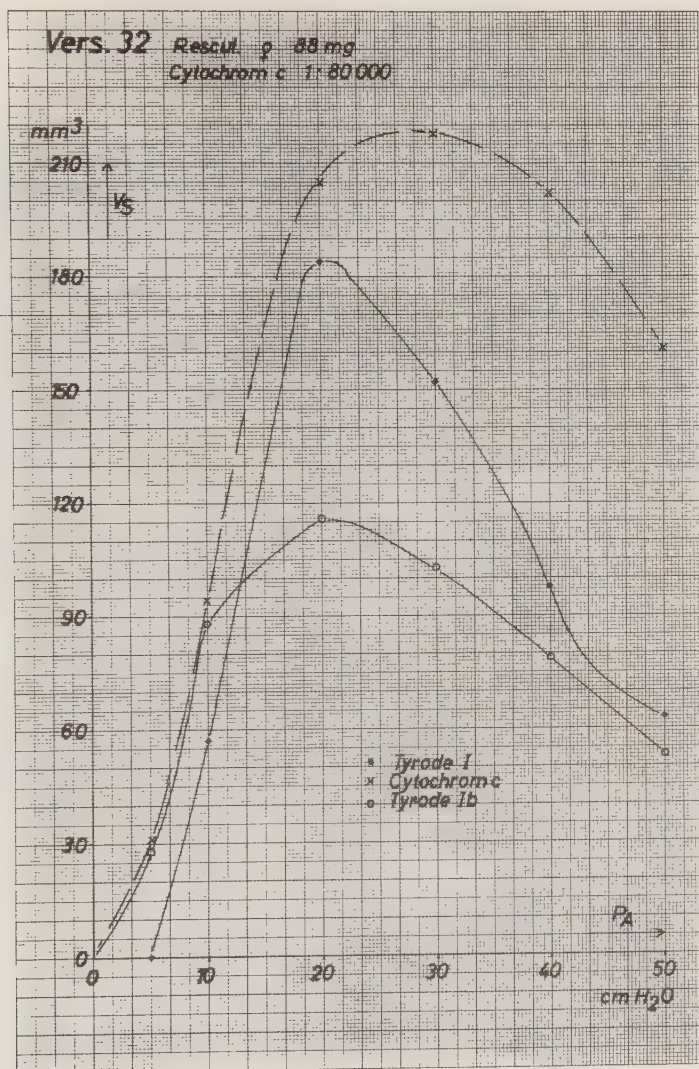


Abb. 7 : V_S als Funktion des arteriellen Druckes für das Esculenten-Herz des Versuches 13 unter der Wirkung von Tyrode und einer hohen Cytochrom c-Konzentration 1 : 10 000.



4

Abb. 8 : V_S als Funktion des arteriellen Druckes für das Esculenten-Herz des Versuches 32 unter der Wirkung von Tyrode und einer niedrigen Cytochrom c-Konzentration 1 : 80 000.

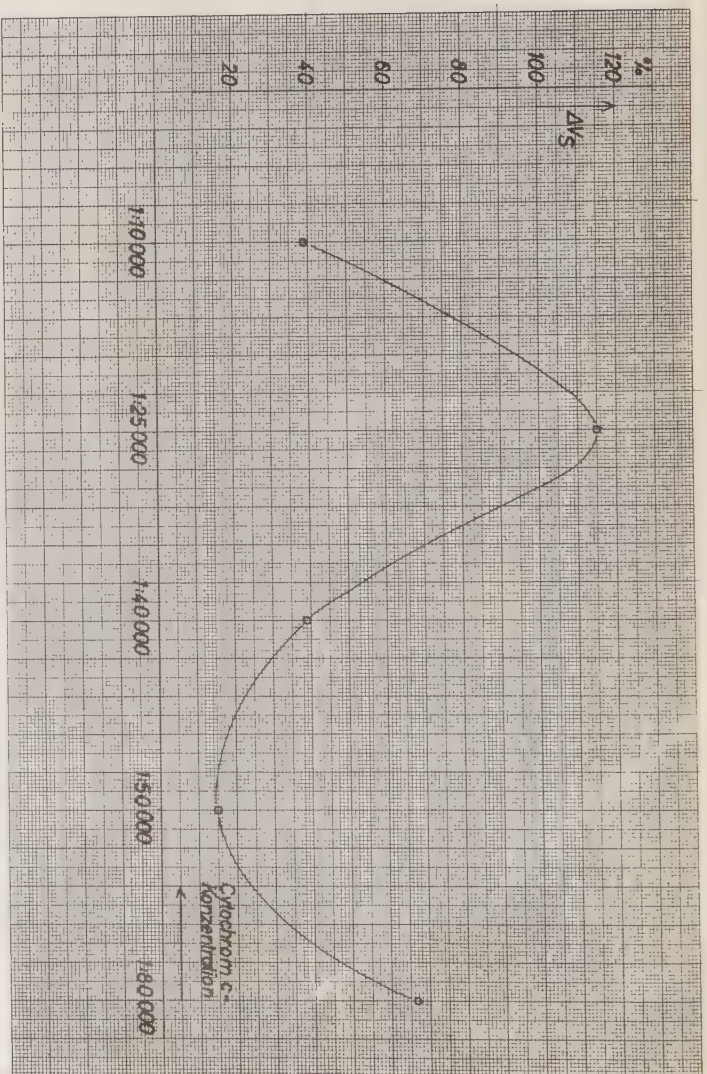


Abb. 9 : Dosiswirkungskurve von 5 verschiedenen Cytochrom c-Konzentrationen, ΔV_S (%) von Cytochrom gegen den Wert von Tyrode 1b bei konstantem Belastungsdruck von $P_A = 30 \text{ cm H}_2\text{O}$.

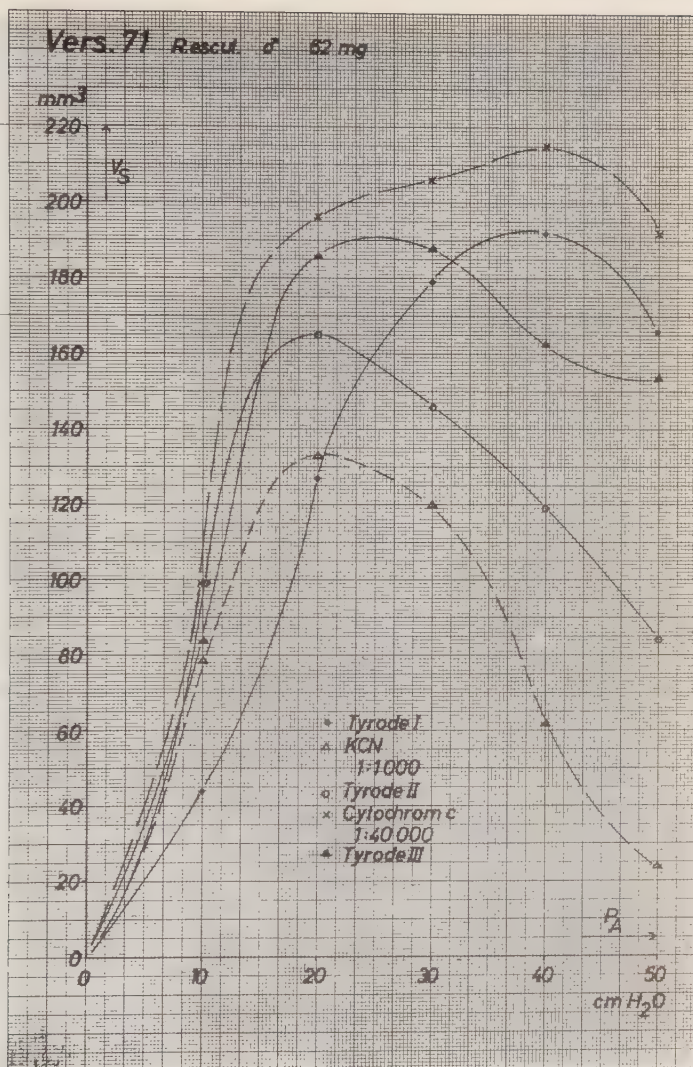
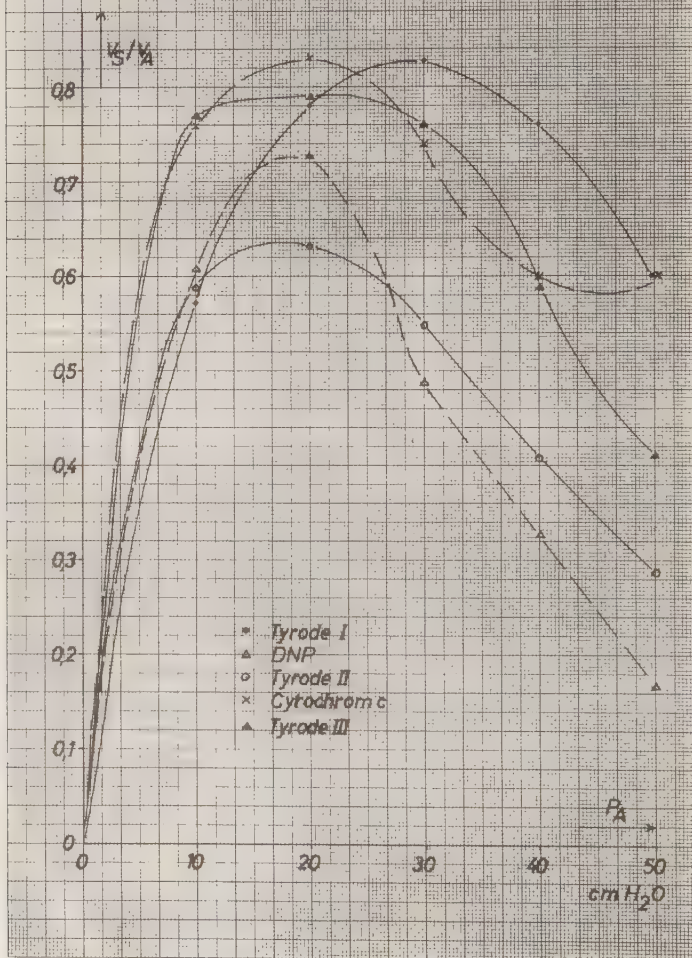


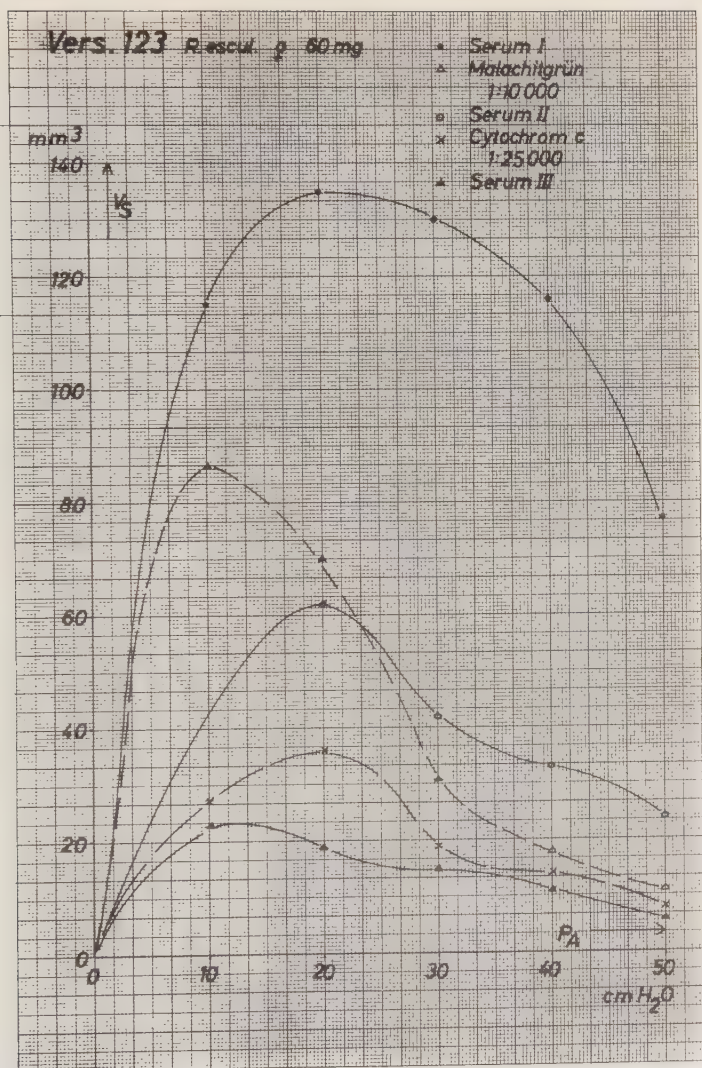
Abb. 10 : V_S als Funktion des arteriellen Druckes des Esculenten-Herzens von Versuch 71 unter der Wirkung von Tyrode, KCN 1 : 1 000 und Cytochrom c 1 : 40 000.

Vers. 77, 82, 89, 147



15

Abbs. 11 : Verhältnis V_S/V_A als Funktion von p_A .
Mittelwertkurven aus 4 verschiedenen
Versuchen, in denen die Herzen mit
DNP vergiftet wurden.



145

Abb. 12: V_S als Funktion von p_A für das Esculenten-Herz des Versuches 123 unter der Wirkung von Serum, Malachitgrün 1 : 10 000 und Cytochrom c 1 : 25 000 (die V_S -Werte sinken auch während der Einwirkung von Cytochrom c weiter ab).

Vers. 121, 122, 123

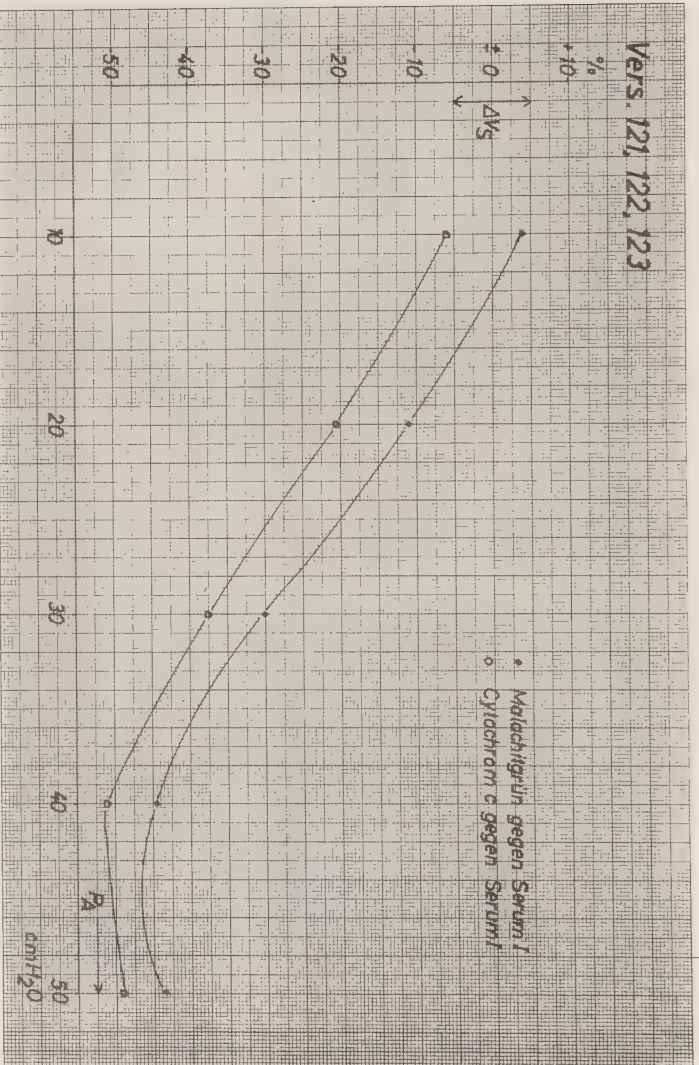


Abb. 13 : ΔV_g (%) als Funktion des arteriellen Druckes.
Mittelwertskurve von 3 Versuchen aus der Serie
der Malachitgrün-Vergiftungen.

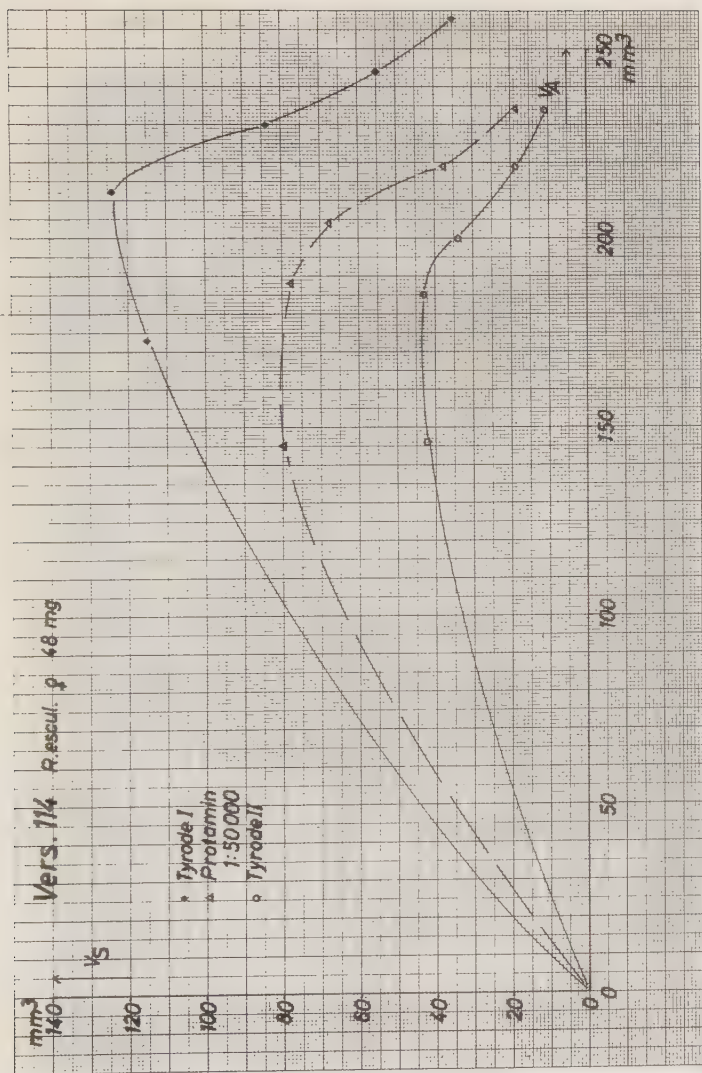


Abb. 14 : Die Schlagvolumina als Funktion der enddiastolischen Füllungen des Esculenten-Herzens von Versuch 114 unter der Wirkung von Tyrode und Protamin 1 : 50 000.

[illegible]

von Lynde,

Cylochrom

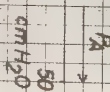


Abb. 15:

ΔV_S als Funktion von p_A . Mittelwertskurven aus 2 Versuchen, in denen zum Vergleich Myoglobin und Cytochrom auf dasselbe Herz einwirkten.

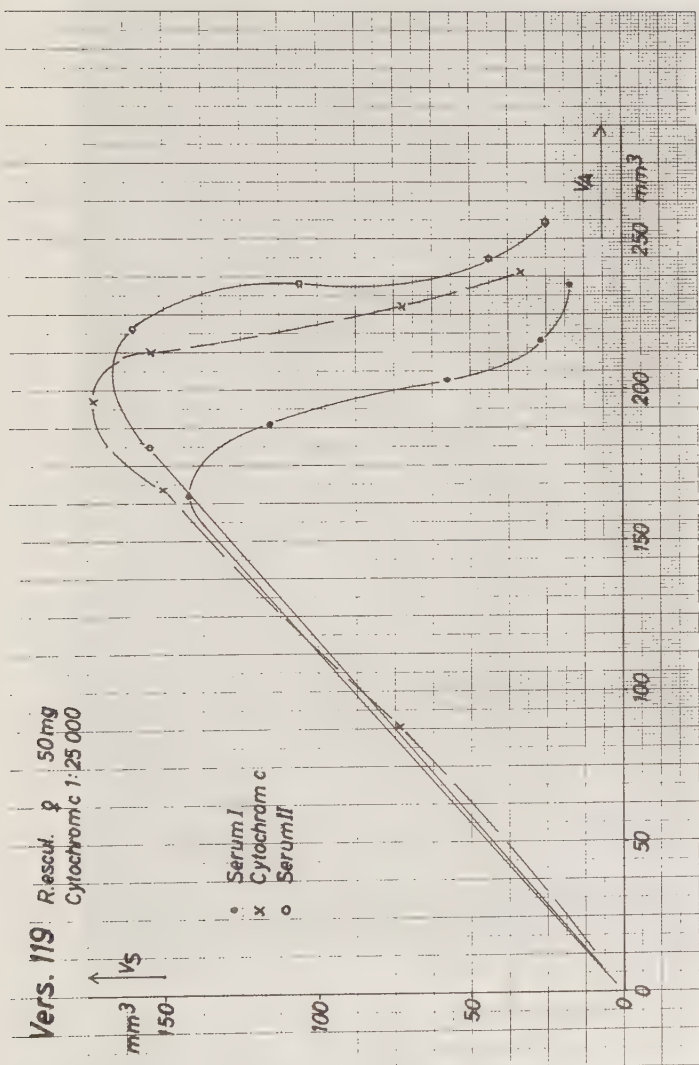


Abb. 16: V_S als Funktion von V_A des Esculenten-Herzens von Versuch 119 unter der Wirkung von Serum und Cytochrom c 1 : 25 000.

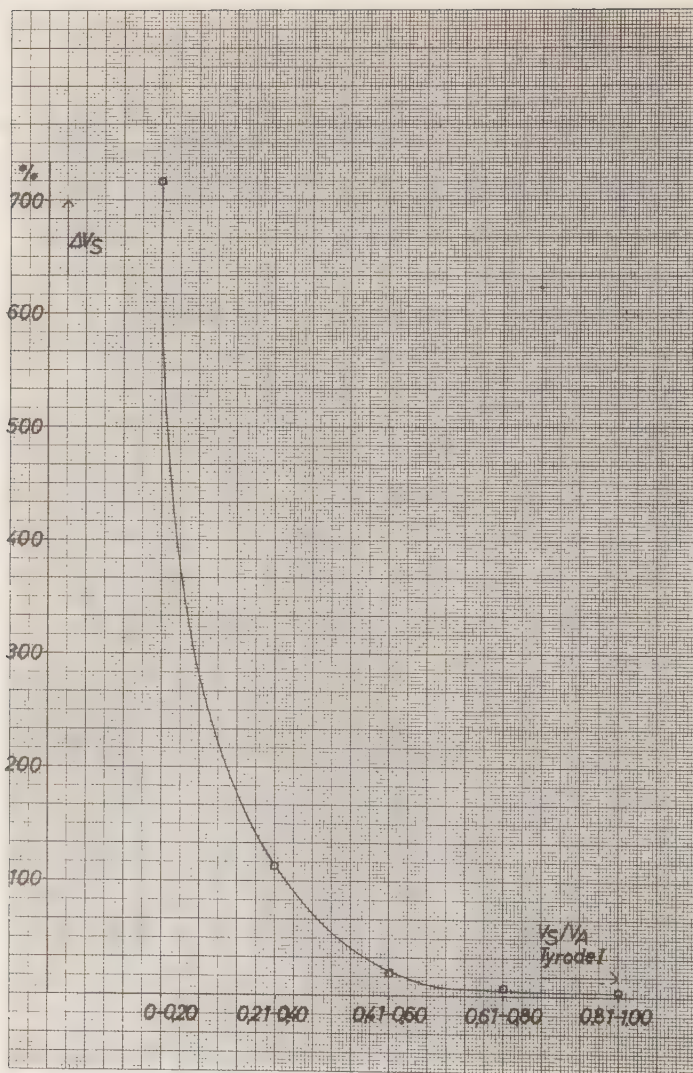


Abb. 17: Schlagvolumenvergrößerung ΔV_S (%) unter der Wirkung von Cytochrom c als Funktion der Ausgangshypodynamie (V_S/V_A) für den konstanten arteriellen Druck von $p_A = 30 \text{ cm H}_2\text{O}$. Mittelwertskurve aller Versuche mit längerer Druckbelastung.

- ΔV_A (Cytochrom - Tyrodel) % für $P_A = 30 \text{ cm H}_2\text{O}$
- ΔV_A (Tyrodel - Cytochrom) % für $P_A = 30 \text{ cm H}_2\text{O}$

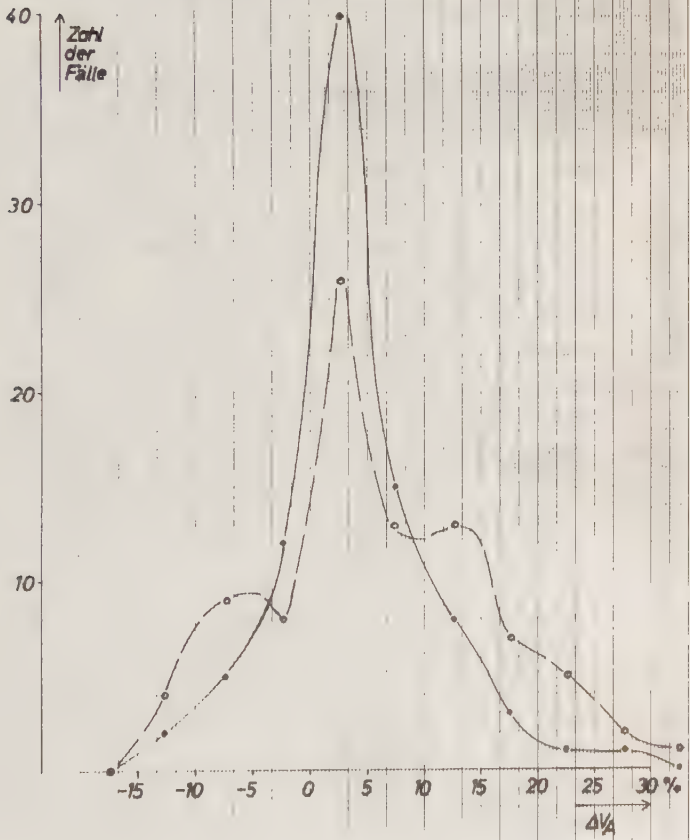


Abb. 18 : Häufigkeitskurven der V_A -Wert-Veränderungen bei und nach der Wirkung von Cytochrom c bei konstantem arteriellem Druck von 30 cm H_2O .

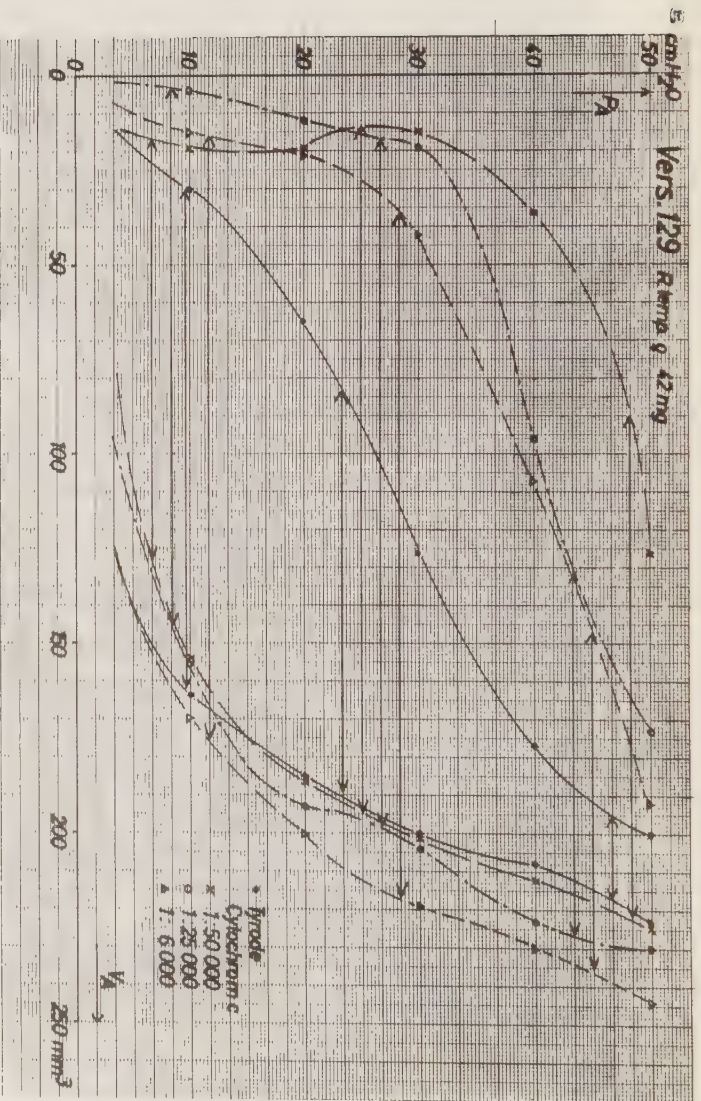


Abb. 19 : Kurven der isotonischen Minima und Maxima (Gleichgewichtskurven) des Temporenen-Herzens von Versuch 129 unter der Wirkung von Tyrode und 3 verschiedenen Cytochrom c-Konzentrationen. Die horizontalen Pfeile demonstrieren die jeweiligen V_s -Werte.

L i t e r a t u r

- (1) Klar, Klin. Wschr. 20 (1941): 1215-16
- (2) Proger u. Dekaneas, Science 104 (1946): 389
- (3) Proger, Aisner u. Squires, J. clin. Invest.
21 (1942): 630
- (4) Proger, Dekaneas u. Schmidt, Z. biol. chem.
160 (1945): 233
- (5) Proger u. Dekaneas, Z. pediatr. 29 (1946):
729
- (6) Ammon u. Fedtke, Med. Mschr. 2 (1948): 141
- (7) Ammon, Pharmazie 5 (1960): 6
- (8) Bakst u. Rinzler, Proc. Soc. exper. Biol.,
U. Y. 67 (1943): 531
- (9) Ruff, Fedtke u. Ammon, Ztschr. f. Kreis-
laufforsch. 39 (1950): 146
- (10) Matthes, Kreislaufuntersuchungen am Menschen
mit fortlaufend registrierenden
Methoden, Thieme, Stuttgart, 1950
- (11) Feinen, Dtsch. med. Wschr. 80 (1955): 146
- (12) Krull F., Medizinische 1957, 29/30: 1069
- (13) Schmidt u. Hillebrand, Ztschr. f. d. exper.
Med., B 120 (1953): 685-695
- (14) Fedtke u. Ammon, Klin. Wschr., 26 (1948):
603
- (15) R. Stelter, Medizinische (1953): 351
- (16) Boekh, Dtsch. med. Wschr. 78 (1953): 274
- (17) Braun V., Medizinische 47 (1958): 1919
- (18) Vannotti, Scholder, Jequir, Schweiz. med.
Wschr. 82 (1952): 10
- (19) Feinen u. Keil, Der Anästhesist 2 (1953): 176
- (20) Feinen u. Krull, Therapiewoche 5 (1955): 414
- (21) Boden, Gillmann u. Horn, Therapiewoche 5
(1954): 34
- (22) Zapp E., Arch. f. Kinderheilk., Bd. 156,
(1958): H. 3
- (23) Schollmeyer P. u. Klingenberg M., Biochem.
Zeitschr. 355 (1962): 426-439
- (24) Richterich R., Enzymopathologie, Springer,
Basel, 1950

- (25) Neuroth, G. u. Wezler, K., Pflüg. Arch.
255 (1952): 93
- (26) Frank, O., Z. Biol. 32 (1895): 370
- (27) Wezler, K., Arzneim.-Forsch. 8 (1958): 177
- (28) Wezler, K., Arzneim.-Forsch. 11 (1961): 943
- (29) Carter, G.S., J. of Exper. Biol. 10 (1933):
256
- (30) Müller, HK., persönliche Mitteilung
- (31) Geppert, J., Z. klin. Med. 15 (1889): 208
- (32) Möller, K., Pharmakologie, Basel, 1961
- (33) Wirth, W., Arch. exper. Path. u. Pharm. 179
(1935): 558
- (34) Flury - Heubner, Biochem. Z. 93 (1919): 312
- (35) Staub, H., Klin. Wschr. 6 (1935): 185
- (36) Parker, V.H., Analyst 74 (1949): 646
- (37) Loomis, W.F. u. Lipmann, F., J. Biol. Chem.
173 (1948): 807
- (38) Werth, G., Arzneim.-Forsch. 8 (1958): 735
- (39) Böhm, K., Arzneim.-Forsch. 9 (1959): 500
- (40) Fischer, E., Arzneim.-Forsch. 7 (1957): 192
- (41) Brock, N., Erhardt, A., Arzneim.-Forsch. 1
(1951): 5
- (42) Kimmig, J., Rieth, H., Arzneim.-Forsch. 3
(1953): 267
- (43) Ehrenberg u. Theorell, Acta Chem. Scand. 9
(1955): 1193
- (44) Gebhardt, W., Arch. f. Kreislaufforsch. 34
(1961): 201
- (45) Wezler, K., Ztschr. f. Kreislaufforsch. 51
(1962): 838

Herrn Prof. Dr. K. Wezler danke ich für die
Überlassung des Themas und für die großzügige
Unterstützung.

Ferner danke ich der Firma Mack / Illertissen
für die Versuchsmengen des Präparates, die
mir zur Verfügung gestellt wurden.

L e b e n s l a u f

Am 30. August 1932 wurde ich als Sohn des Hauptlehrers Peter Schäfer und seiner Ehefrau Maria, geb. Stahlheber, in Dehm / Lahn geboren.

Dort besuchte ich von 1938 bis 1946 die Volksschule. Danach war ich am Realgymnasium für Jungen in Limburg / Lahn, wo ich 1954 die Reifeprüfung ablegte.

Anschließend studierte ich im Franziskanerorden an der Duns Scotus-Akademie in Mönchengladbach Philosophie und Theologie.

1957 begann ich das Studium der Medizin an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt / Main, wo ich 1964 die ärztliche Prüfung ablegte.

Zur Zeit bin ich als Medizinalassistent am St. Katharinen-Krankenhaus in Frankfurt / Main tätig.

M e i n e a k a d e m i s c h e n L e h r e r w a r e n :

AMELUNG, Walther, Prof. Dr. med.

ARTELT, Walter, Prof. Dr. med., Dr. med. dent., Dr. phil.

BETKE, Hans, Prof. Dr. med.

BOENNINGHAUS, Hans-Georg, Prof. Dr. med.

BREHM, Herbert, Priv. Doz., Dr. med.

CHRIST, Paul, Prof. Dr. med.

DUUS, Peter, Prof. Dr. med.

FREY, Joachim, Prof. Dr. med.

FRICK, Hans, Prof. Dr. med.

FROMEIN, Rolf, Prof. Dr. med.

GEISSENDÖRFER, Rudolf, Prof. Dr. med.

GERCHOW, Joachim, Prof. Dr. med.

GRÜNER, Oskar, Prof. Dr. med.

GUNTZ, Eduard, Prof. Dr. med.

HEINECKER, Rolf, Prof. Dr. med.

HELLER, Luz, Prof. Dr. med.

HERRMANN, Franz, Prof. Dr. med.

HERZBERG, Kurt, Prof. Dr. med.

HILDEBRAND, Heinrich, Prof. Dr. med.

HOFF, Ferdinand, Prof. Dr. med.

HOLTZ, Peter, Prof. Dr. med.

JÜRGENS, Jörg, Prof. Dr. med.

KASER, Otto, Prof. Dr. med.

KAHLAU, Gerhard, Prof. Dr. med.

KRUCKE, Wilhelm, Prof. Dr. med.

KUHLENKAMPFF, Caspar, Prof. Dr. med.
LANDES, Erich, Prof. Dr. med.
LAPP, Heinrich, Prof. Dr. med.
LEONHARDI, Gottfried, Prof. Dr. med.
LIEB, Wolfgang Albert, Prof. Dr. med.
LUFF, Karl, Prof. Dr. med.
MARTIN, Helmut, Prof. Dr. med.
MITTERMAIER, Richard, Prof. Dr. med.
PFEIFFER, Ernst Friedrich, Prof. Dr. med.
RADENBACH, Karl Ludwig, Prof. Dr. med.
V. RECKOW, Joachim, Prof. Dr. med. dent.
ROTTER, Wolfgang, Prof. Dr. med.
RUF, Hugo, Prof. Dr. med.
SCHWENZER, Adolf Wilhelm, Prof. Dr. med.
SCHÖFFLING, Karl, Prof. Dr. med.
STARCK, Dietrich, Prof. Dr. med.
STRNAD, Franz, Prof. Dr. med.
THIEL, Rudolf, Prof. Dr. med.
UNGEHEUER, Edgar, Prof. Dr. med.
WEBER, Wolfgang, Priv. Doz., Dr. med.
WEISSE, Karla, Prof. Dr. med.
WESTERMANN, Erik, Prof. Dr. med.
WEZLER, Karl, Prof. Dr. med.
ZAHN, Rudolf Karl, Prof. Dr. med.
ZIMMERMANN, Horst, Prof. Dr. med.
ZUTT, Jürg, Prof. Dr. med.

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die der Medizinischen Fakultät Frankfurt/Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel

"Die Wirkung des Cytochrom c auf die Dynamik des isolierten, spontan schlagenden Froschherzens"
in dem Institut für animalische Physiologie der Universität Frankfurt am Main unter der Leitung von Herrn Professor Dr. med. K. Wezler ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Nikolaus Schäfer

